

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MIRIAN NASCIMENTO MENDONÇA



FILOGENIA MOLECULAR DE HILARINI E DAS
LINHAGENS NEOTROPICAIS DE EMPIDINI
(DIPTERA: EMPIDIDAE: EMPIDINAE)

CURITIBA
2011

MIRIAN NASCIMENTO MENDONÇA

**Filogenia molecular de Hilarini e das linhagens neotropicais de
Empidini (Diptera: Empididae: Empidinae)**

Tese apresentada à Coordenação do curso de Pós-graduação em Ciências Biológicas, área de concentração em Entomologia, da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do grau de Doutor em Ciências.

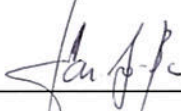
Orientador: Claudio José Barros de Carvalho.
Co-Orientador: Brian M. Wiegmann.

Curitiba
2011

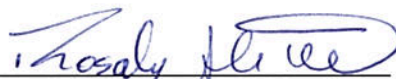
MIRIAN NASCIMENTO MENDONÇA

“FILOGENIA MOLECULAR DE HILARINI E DAS LINHAGENS
NEOTROPICAIS DE EMPIDINI (DIPTERA: EMPIDIDAE: EMPIDINAE)”

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de “Doutor em Ciências”, no Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, Área de Concentração em Entomologia, da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão formada pelos professores:

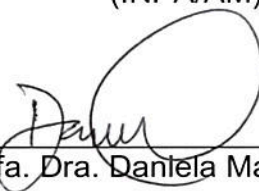


Prof. Dr. Claudio José Barros de Carvalho (Orientador)
(UFPR)



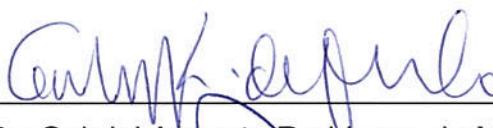
Dra. Rosaly Ale Rocha

(INPA/AM)

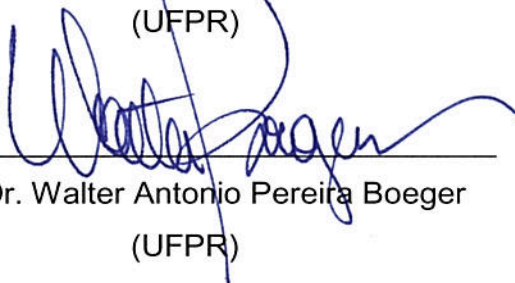


Profa. Dra. Daniela Maeda Takiya

(UFRJ)



Prof. Dr. Gabriel Augusto Rodrigues de Melo
(UFPR)



Prof. Dr. Walter Antonio Pereira Boeger
(UFPR)

Curitiba, 16 de dezembro de 2011.

**Dedico este trabalho aos meus pais,
Euclides José Mendonça e Alair
Ovídia Nascimento Mendonça.**

AGRADECIMENTOS

Aqui está sendo marcado o fim de um longo caminho como acadêmica no qual várias instituições e pessoas participaram. Nesta ocasião vou me ater a agradecer aos que compartilharam da última etapa desta caminhada, nos últimos quatro anos, que correspondem ao período do doutorado. Entretanto, os anos que antecederam esse período foram os que construíram uma Mirian preparada para realizar o doutorado e a todos os que conviveram comigo entre os anos 2000 e 2007, na Univali e no INPA, fica aqui o meu agradecimento.

A UFPR entrou na minha vida em 2008, quando e eu passei a frequentar os seus corredores gelados; mas o que mais eu poderia querer depois de passar dois anos e meio morando no calor amazônico de Manaus? Então, meu primeiro agradecimento é ao clima de Curitiba e à toda infraestrutura da universidade, especialmente ao restaurante universitário, que proporcionou reuniões diárias entre os alunos e refeições deliciosas.

Sigo agradecendo meu orientador, Dr. Claudio José Barros de Carvalho, pela agradável convivência ao longo destes quatro anos, e, sobretudo, por sabiamente me conduzir pelo caminho científico sendo um exemplo de sucesso como pesquisador e professor; com o senhor, alcancei um excelente nível de formação e conhecimento.

Durante meu um ano nos Estados Unidos, trabalhando no laboratório do Dr. Brian Wiegmann, nas dependências da North Carolina State University, eu consegui produzir frutos que eu jamais imaginei que poderia, so, I would like to give a special thanks to all people from his Lab (Dipteran Molecular Systematics Lab), who taught me and became a great part of my life and my work: Brian Wiegmann, Brian Cassel, Isaac Winkler, Steven Turner and Keith Bayless. Thank you for giving me the privilege and honor of working with such great friends. To Brian Wiegmann, to simply say thank you would not be enough. You were there for me not just like another advisor, but like a father. You are a great friend and that is a real blessing. To Brian Cassel, my personal lab teacher, and Isaac Winkler, my personal empirical professor, thank you for allowing me to be a part of such a great experience. The hours and time you devoted to me were amazing. To Keith and Steven, thank you for your amazing friendship and all the happy hours in Raleigh.

Receber um salário para estudar não é uma realidade na maioria dos países. Por isso, meu sincero agradecimento às agências de fomento que financiam a ciência brasileira e, em especial, à Capes, por ter me concedido quatro anos de bolsa de estudos, incluindo um ano de bolsa sanduíche realizado nos EUA, o qual fez com que a minha tese tomasse um rumo de sucesso que eu jamais havia imaginado. Meu agradecimento também à National Science Foundation (projeto número 0842118), por ter financiado a obtenção de todas as sequências de DNA usadas neste trabalho, bem como as viagens à congressos internacionais e às coletas na América Central e do Norte. Extendo meu agradecimento ao Programa Nacional de Cooperação Acadêmica, PROCAD, por ter financiado viagens de coleta à Amazônia.

No departamento de zoologia eu nunca fui uma aluna popular; mas eu sempre tive ciência dos grandes nomes que estavam ao meu redor e da pesquisa de peso produzida pelo nosso grupo de professores. Estes pesquisadores/professores serão sempre lembrados como modelos de pessoas sérias e comprometidas. Meu sincero agradecimento aos professores: Cibele Ribeiro-Costa, Claudio J. B. de Carvalho, Danúncia Urban, Gabriel Melo, Lúcia M. Almeida, Luciane Marinoni, Marcio Pie, Mário Navarro, Mauricio Moura, Mirna Casagrande, Olaf Mielke, Rodney Cavichioli e Walter Boeger. Estendo ainda meus agradecimentos aos queridos e competentes amigos Dani Takyia e Eduardo Almeida.

Aos professores da banca examinadora – Claudio J. B. de Carvalho (UFPR), Daniela Takiya (UFRJ), Gabriel Melo (UFPR), Rosaly Ale-Rocha (INPA) e Walter Boeger (UFPR) – que se mostraram comprometidos com a avaliação deste trabalho e contribuíram para uma considerável melhora do mesmo.

Aos alunos da entomologia, Fernandinho, Eduardo, Anderson, Laercio, Andressa e Angélico e, em especial, aos companheiros do Laboratório de Biodiversidade e Biogeografia e de Diptera: Diana, Danilo, Lica, Alessandre, André, Livia e Tatiana.

Como demonstrar o tamanho do carinho que eu sinto pelas minhas amigas num simples parágrafo? Olivinha, minha querida, meus sinceros agradecimentos à você que sempre, sem pestanejar, se mostrou dedicada, disponível, bem humorada; estudiosa, compenetrada, cientista, taxonomista; roqueira, mas que nunca se negou a curtir um forró, samba, *or whatever* com as amigas... Keli, que me conquistou desde o primeiro

dia que a conheci; com você eu construí uma amizade tão sincera, sempre com muito respeito e admiração. A sua maturidade sempre trouxe os conselhos mais sensatos pra nós três!! E o que falar de Mari? Tem alguém mais doce do que você? É tão bom ter uma melhor amiga que não é entomóloga, sabia? As nossas conversas sempre me deixam mais leve e me fazem esquecer um pouco esta tese! A mamãe da Bia também não pode deixar de ser lembrada! Joca, você sempre trouxe muita alegria para todas nós; seu bom humor, carisma e otimismo fizeram toda a diferença durante os últimos anos. Olivia, Kelli, Joca e Mari, obrigado por me aceitarem e acolherem entre vocês tão carinhosamente... Essas amizades construídas nos últimos 4 anos são as mais bem sucedidas da minha vida!

Quero fazer um agradecimento especial também a minha amiga Fabi, que me ensinou a viver de um modo diferente, de uma forma mais leve e divertida. Aprendi tanto morando com você, sabia? Foram quase 2 anos muito divertidos no apartamentozinho apertado no Cristo Rei! Muitos vinhos, cervejas, vodcas, rums, licores... hahahaha... Te adoro, gurria!

First of all, thank you God for loving me despite all the ways I fall short. To the amazing father of my little girl Johnathan Watts, you are my best friend and I wish I could express all my love and acknowledgment for you in a few words, but you deserve more. I will do my best to make you the happiest man every single day of our life. You are a man with such simplicity and a lovely heart; you bring light into my life and I'm so thankful to have you with me. It has been only 18 months, but you will always be the love of my life. Now, we have this gift growing, she's is going to bring all the happiness and hope we could ever dream of. I love you, baby.

À minha família, pai, mãe e mana, quero expressar toda a minha gratidão. Sem vocês nem um único passo teria sido possível. Sem dúvida foi o apoio de vocês que fez com que esse sonho se tornasse possível e agora, realizado. Inevitavelmente, esse sonho me levou pra longe, mas a cada passo e cada conquista, vocês sempre estiveram comigo, e foi isso, de fato, o que sempre me empurrou para frente. À minha mãe, Alair, que sempre colocou a família em primeiro lugar e fez de tudo para manter a harmonia na *grande família*; ao meu pai, Euclides, pela sua eterna simplicidade e pelo esforço em tentar entender o porque de eu ter resolvido trabalhar com moscas...; à

minha querida irmã Adriane, pela amizade e carinho e por ter nos dado nosso amado Samuel. À você samuca, lindo da dinda, obrigada por trazer tanta alegria à nossa família!

Muito obrigada!

Thank you!

Muchas gracias!

...[a good proposal mechanism] currently involves the burning of incense, the casting of chicken bones, use of magical incantations, and invoking the opinions of more prestigious colleagues.

J. Felsenstein, 2004

As buds give rise by growth to fresh buds, and these, if vigorous, branch out and overtop on all sides many a feebler branch, so by generation I believe it has been with the great Tree of Life, which fills with its dead and broken branches the crust of the earth, and covers the surface with its ever branching and beautiful ramifications.

Charles Darwin
On the Origin of Species, 1859

RESUMO GERAL

Empididae pertence à superfamília Empidoidea, considerada uma linhagem monofilética e grupo-irmão de Cyclorrhapha. Empidinae é considerada uma subfamília monofilética com 32 gêneros reconhecidos, sendo 14 na tribo Empidini e 18 na tribo Hilarini e é uma das três abrigadas em Empididae. Os empidíneos são conhecidos como *dance flies*, isso porque machos (ou fêmeas, em algumas espécies) formam enxames para atrair o parceiro; nestes enxames o macho presenteia a fêmea com uma presa, e então realiza a cópula. Dos 32 gêneros reconhecidos em Empidinae, 22 ocorrem na Região Neotropical, dos quais 12 são reconhecidos em Empidini e 10 em Hilarini [número total de espécies]: *Allochrotus* Collin [1], *Amictoides* Bezzi [1], *Aplomera* Macquart [18], *Atrichopleura* Collin [21], *Bolrhamphomyia* Rafael [1], *Chileramphomyia* Rafael [1], *Clinorhampha* Collin [3], *Deuteronista* Philippi [8], *Empidadelphina* Collin [1], *Empis* Linnaeus [75], *Hilara* Meigen [20], *Hilarempis* Bezzi [57], *Hilarigona* Collin [23], *Hystrichonotus* Collin [1], *Lampremis* Wheeler & Melander [22], *Macrostomus* Wiedemann [19], *Opeatocerata* Melander [4], *Porphyrochroa* Melander [54], *Pasitrichotus* Collin [1], *Rhamphomyia* Meigen [15], *Sphicosa* Philippi [9] e *Trichohilara* Collin [1]. Grande parte da diversidade da tribo Hilarini é reconhecida para a Região Andina, que possui oito gêneros endêmicos. Diante disso se faz necessário um estudo filogenético com uma adequada representatividade que oferecerá suporte para que interpretações sobre a diversificação morfológica e ecológica da subfamília inteira possam ser futuramente esclarecidas. Para realização deste projeto, 884 sequências de DNA de cinco diferentes genes foram obtidas para inferir a filogenia das tribos Empidini e Hilarini, na tentativa de identificar grupos monofiléticos. As quatro primeiras unidades do gene nuclear CAD e a primeira unidade do gene mitocondrial Citocromo Oxidase foram utilizados. Foram incluídos 204 terminais nos dois capítulos deste trabalho (anexo 1), sendo 141 Empidini (em 10 gêneros) e 54 Hilarini (em 8 gêneros), das seis regiões biogeográficas, amostrando a diversidade dentro da subfamília; outras oito espécies foram incluídos para formar o grupo-externo. Os resultados das análises de parcimônia, máxima verossimilhança e inferência bayesiana foram altamente similares, tanto para a tribo Empidini (capítulo 1), quanto para Hilarini (capítulo 2). Os resultados reafirmaram a monofilia de Hilarini e a parafilia de Empidini em relação à tribo irmã. As espécies dos gêneros andinos e australianos de Empidini (*Clinorhampha*, *Empidadelphina*, *Hystrichonotus*, *Sphicosa* e algumas espécies de *Empis* e *Rhamphomyia*) aparecem em um ramo de uma linhagem basal dentro da tribo e não são monofiléticos em relação as outras espécies (*Empis* e *Rhamphomyia* neárticos e paleárticos, e os gêneros com ocorrência na parte mais quente da Região Neotropical). Por outro lado, os três gêneros endêmicos neotropicais de Empidini (*Macrostomus*, *Opeatocerata* e *Porphyrochroa*) formam um clado derivado dentre as relações filogenéticas, sendo estes, pela primeira vez, mostrados como linhagens monofiléticas. Em Hilarini, *Aplomera* foi reconhecido como parafilético, enquanto que *Atrichopleura*, *Deuteronista*, *Hilara*, *Hilarempis* e *Hilarigona* apareceram como sendo polifiléticos.

Palavras-chave: Empidini, filogenia molecular, Hilarini, Neotropical.

GENERAL ABSTRACT

Empididae belongs to the superfamily Empidoidea, considered a monophyletic lineage and sister group of Cyclorrhapha. The monophyletic Empidinae is one of the three subfamilies placed in Empididae, which has 32 recognized genera, 14 of which in Empidini and 18 in Hilarini. They are well known as dance flies for their elaborate courtship displays where males (or females in some species) form swarms to attract mates. The transfer of nuptial prey to the female often occurs in those swarms. From the 32 genera of Empidinae, 22 occur in the Neotropical region, twelve of which are Empidini and ten are Hilarini [total number of species]: *Allochrotus* Collin [1], *Amictoides* Bezzi [1], *Aplomera* Macquart [18], *Atrichopleura* Collin [21], *Bolrhamphomyia* Rafael [1], *Chileramphomyia* Rafael [1], *Clinorhampha* Collin [3], *Deuteronista* Philippi [8], *Empidadelpha* Collin [1], *Empis* Linnaeus [75], *Hilara* Meigen [20], *Hilarempis* Bezzi [57], *Hilarigona* Collin [23], *Hystrichonotus* Collin [1], *Lampremis* Wheeler & Melander [22], *Macrostomus* Wiedemann [19], *Opeatocerata* Melander [4], *Porphyrochroa* Melander [54], *Pasitrichotus* Collin [1], *Rhamphomyia* Meigen [15], *Sphicosa* Philippi [9], and *Trichohilara* Collin [1]. The most biodiversity of the tribe Hilarini occurs in the Andean region, where eight genera are recognized as endemic. As a result, a phylogenetic study with a sufficient amount of samples will be needed. This will offer great support and clarification in the interpretation of the morphological and ecological diversification of the entire subfamily. To identify monophyletic groups, we used 884 DNA sequences from the genes CAD and COI to infer the phylogeny of the tribes Empidini and Hilarini. We included a total number of 204 taxa in both chapters of this thesis: 141 in Empidini (in ten genera) and 54 in Hilarini (in eight genera), which are from the six biogeographic regions in the world, spanning the diversity within the tribe. Also, we included eight species to form the out-group. The results from parsimony, maximum likelihood, and bayesian inference were largely similar, with major groupings of genera in common, as to the tribe Empidini (chapter 1), as to the tribe Hilarini (chapter 2). All analyses recovered a monophyletic Hilarini and a paraphyletic Empidini regarding Hilarini. The Andean and Australian species of Empidini (*Clinorhampha*, *Empidadelpha*, *Hystrichonotus*, *Sphicosa* and some species of *Empis* and *Rhamphomyia*) were found to be a part of an early-branching lineage within the tribe, and are not monophyletic with other Empidini (*Empis* and *Rhamphomyia* nearctics and palaearctics, and the genera that occur in the warmer part of Neotropic). On the other hand, the three Neotropical endemic genera of Empidini (*Macrostomus*, *Opeatocerata* and *Porphyrochroa*) comprise a single derived clade and they are, by the first time, showed as monophyletic lineages. In Hilarini, *Aplomera* was found to be paraphyletic, while *Atrichopleura*, *Deuteronista*, *Hilara*, *Hilarempis* and *Hilarigona* came out as polyphyletic lineages.

Key-words: Empidini, molecular phylogeny, Hilarini, Neotropical.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Porção da família Empididae do consenso estrito de 1728 cladogramas mais parcimoniosos produzido através da análise de dados morfológicos (de Sinclair & Cumming, 2006)..... 53

Figura 2: Cladograma de consenso estrito das oito árvores mais parcimoniosas mostrando as relações de parentesco entre as espécies da tribo Empidini e os grupos externos adicionados inferido pelo método de parcimônia. Análise combinada das cinco partições estudadas, COI+CAD1+CAD2+CAD3+CAD4 (160 terminais; 3926 caracteres; 1934 caracteres informativos para parcimônia). 54

Figura 3: Filograma mostrando as relações de parentesco entre as espécies da tribo Empidini e os grupos externos adicionados inferido pelo método de máxima verossimilhança (-lnL=132581.5501). Análise combinada das cinco partições estudadas, COI+CAD1+CAD2+CAD3+CAD4 (160 terminais, 3926 caracteres). O modelo GTR+I+ Γ foi o sugerido para a partição do gene CAD e o modelo HKY+I+ Γ foi o sugerido para a partição do gene COI. 55

Figura 4: Filograma de consenso mostrando as relações de parentesco entre as espécies da tribo Empidini e os grupos externos adicionados inferido pelo método de inferência bayesiana. Análise combinada das cinco partições estudadas, COI+CAD1+CAD2+CAD3+CAD4 (160 terminais e 3926 caracteres). Os valores das probabilidades posteriores associadas a cada clado estão representados na frente de cada nó. Os valores de bootstrap de máxima verossimilhança acima de 50% estão indicados nos nós correspondentes das categorias elevadas. O modelo GTR+I+ Γ foi o sugerido para a partição do gene CAD e o modelo HKY+I+ Γ foi o sugerido para a partição do gene COI. 56

Figura 5: Filograma mostrando as relações de parentesco entre as espécies da tribo Empidini e os grupos externos adicionados, inferido pelo método de inferência bayesiana. Análise combinada das cinco partições estudadas, COI+CAD1+CAD2+CAD3+CAD4 (160 terminais e 3926 caracteres). Os valores das probabilidades posteriores associadas a cada clado estão representados na frente de cada nó. Os valores de bootstrap de máxima verossimilhança acima de 50% estão indicados nos nós correspondentes. O clado destacado em cinza (à esquerda) é mostrado em zoom maior à direita e corresponde ao grupo Sphicosa (de Daugeron & Winkler, 2010). 57

Figura 6: Filograma mostrando as relações de parentesco entre as espécies da tribo Empidini e os grupos externos adicionados, inferido pelo método de inferência bayesiana. Análise combinada das cinco partições estudadas, COI+CAD1+CAD2+CAD3+CAD4 (160 terminais e 3926 caracteres). Os valores das probabilidades posteriores associadas a cada clado estão representados na frente de cada nó. Os valores de bootstrap de máxima verossimilhança acima de 50% estão

indicados nos nós correspondentes. O clado destacado em cinza (à esquerda) é mostrado em zoom maior à direita e corresponde ao segundo grupo tratado no texto. 58

Figura 7: Filograma mostrando as relações de parentesco entre as espécies da tribo Empidini e os grupos externos adicionados, inferido pelo método de inferência bayesiana. Análise combinada das cinco partições estudadas, COI+CAD1+CAD2+CAD3+CAD4 (160 terminais e 3926 caracteres). Os valores das probabilidades posteriores associadas a cada clado estão representados na frente de cada nó. Os valores de bootstrap de máxima verossimilhança acima de 50% estão indicados nos nós correspondentes. O clado destacado em cinza (à esquerda) é mostrado em zoom maior à direita e corresponde ao terceiro grupo tratado no texto... 59

Figura 8: Filograma mostrando as relações de parentesco entre as espécies da tribo Empidini e os grupos externos adicionados, inferido pelo método de inferência bayesiana. Análise combinada das cinco partições estudadas, COI+CAD1+CAD2+CAD3+CAD4 (160 terminais e 3926 caracteres). Os valores das probabilidades posteriores associadas a cada clado estão representados na frente de cada nó. Os valores de bootstrap de máxima verossimilhança acima de 50% estão indicados nos nós correspondentes. O clado destacado em cinza (à esquerda) é mostrado em zoom maior à direita e corresponde ao quarto grupo tratado no texto. ... 60

Figura 9: Porção de Empididae da árvore filogenética inferida a partir da primeira e a segunda posição do códon de sequências de CAD usando o critério de máxima verossimilhança (de Moulton & Wiegmann, 2007). As tribos Empidini e Hilarini são mostradas como monofiléticas..... 97

Figura 10: Cladograma de consenso estrito das duas árvores mais parcimoniosas mostrando as relações de parentesco entre as espécies da tribo Hilarini e os grupos externos adicionados inferido pelo método de parcimônia. Análise combinada das cinco partições estudadas, COI+CAD1+CAD2+CAD3+CAD4 (92 terminais; 3889 caracteres; 1697 caracteres informativos para parcimônia). 98

Figura 11: Filograma mostrando as relações de parentesco entre as espécies da tribo Hilarini e os grupos externos adicionados inferido pelo método de máxima verossimilhança (-lnL=83170.34352). Análise combinada das cinco partições estudadas, COI+CAD1+CAD2+CAD3+CAD4 (92 terminais, 3889 caracteres). Os valores de bootstrap de máxima verossimilhança acima de 50% estão indicados nos nós correspondentes. O modelo GTR+I+ Γ foi o sugerido para a partição do gene CAD e o modelo HKY+I+ Γ foi o sugerido para a partição do gene COI..... 99

Figura 12: Filograma mostrando as relações de parentesco entre as espécies da tribo Hilarini e os grupos externos adicionados inferido pelo método de inferência bayesiana. Análise combinada das cinco partições estudadas, COI+CAD1+CAD2+CAD3+CAD4 (92 terminais e 3889 caracteres), Os valores das probabilidades posteriores associadas a cada clado estão representados na frente de cada nó. O modelo GTR+I+ Γ foi o sugerido para a partição do gene CAD e o modelo HKY+I+ Γ foi o sugerido para a partição do gene COI. 100

Figura 13: Filograma mostrando as relações de parentesco entre as espécies da tribo Hilarini e os grupos externos adicionados inferido pelo método de inferência bayesiana. Análise combinada das cinco partições estudadas, COI+CAD1+CAD2+CAD3+CAD4 (92 terminais e 3889 caracteres). Os valores das probabilidades posteriores associadas a cada clado estão representados na frente de cada nó. Os valores de bootstrap de máxima verossimilhança acima de 50% estão indicados nos nós correspondentes. O clado destacado em cinza (à esquerda) é mostrado em zoom maior à direita e corresponde à tribo Hilarini tratada no texto (ver resultados). 101

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1:** Número de espécies em cada gênero da tribo Empidini para cada região biogeográfica (Yang *et al.*, 2007) e número total de espécies de cada gênero incluídas. 42
- Tabela 2:** Táxon, local de depósito do *voucher*, código do *voucher*, país de procedência e região biogeográfica correspondente aos 160 terminais utilizados (Empidini e grupos-externos). Abreviações: CNC: Canadian National Collection; DZUP: Coleção Pe. Jesus Santiago Moure do departamento de Zoologia da Universidade Federal do Paraná; INPA: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia; MZUSP: Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo; NCSU: North Carolina State University. Regiões biogeográficas: AFR: Afrotropical; AUS: Australiana; LNEA: leste-Neártica; LPAL: leste-Paleártica; NNEO: norte-Neotropical; ONEA: oeste-Neártica; ORI: Oriental; OPAL: oeste-Paleártica; SNEO: sul-Neotropical. 43
- Tabela 3:** Conjunto de iniciadores utilizados neste estudo para amplificar e sequenciar o gene COI e as quatro primeiras subunidades do gene CAD. 48
- Tabela 4:** Lista dos terminais incluídos nas análises moleculares (Empidini e os grupos-externos) e respectivos números de acesso do GenBank (quando disponível). A presença de Y indica que o gene foi sequenciado para a espécie. 49
- Tabela 5:** Número de espécies em cada gênero da tribo Hilarini para cada região biogeográfica. Yang *et al.* (2007) e número de espécies de cada gênero incluídas. 88
- Tabela 6:** Táxon, local de depósito do *voucher*, código do *voucher*, país de procedência e região biogeográfica correspondente aos 92 terminais utilizados. Abreviações: CNC: Canadian National Collection; DZUP: Coleção Pe. Jesus Santiago Moure do departamento de Zoologia da Universidade Federal do Paraná; INPA: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia; MZUSP: Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo; NCSU: North Carolina State University. Regiões biogeográficas: AFR: Afrotropical; AUS: Australiana; LNEA: leste-Neártica; LPAL: leste-Paleártica; NNEO: norte-Neotropical; ONEA: oeste-Neártica; ORI: Oriental; OPAL: oeste-Paleártica; SNEO: sul-Neotropical. 89
- Tabela 7:** Conjunto de iniciadores utilizados neste estudo para amplificar e sequenciar o gene COI e as quatro primeiras porções do gene CAD. 92
- Tabela 8:** Lista dos terminais incluídos nas análises moleculares (Hilarini e os grupos-externos) e respectivos números de acesso do GenBank (quando disponível). A presença de Y indica que o gene foi sequenciado para a espécie. 93
- Tabela 9:** Frequência das bases referentes a cada gene utilizado. A= adenina, C= citosina, G= guanina, T= timina. CAD= carbamoyl-phosphate synthetase-aspartate transcarbamoylase-dihydroorotase. COI= citocromo oxidase subunidade I. Dados gerados através do programa Paup*. 96

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1: Dados de coleta para as espécies de Empidini, Hilarini e grupos-externos incluídas nos capítulos 1 e 2.....	103
Anexo 2: Matriz alinhada de caracteres usada para realização das análises do capítulo 1, incluindo 160 terminais e 3926 pares de bases provenientes das quatro porções do gene CAD (caracteres 1-3021), e do gene COI (caracteres 3022-3926).....	112
Anexo 3: Matriz alinhada de caracteres usada para realização das análises do capítulo 2, incluindo 92 terminais e 3889 pares de bases provenientes das quatro porções do gene CAD (caracteres 1-3030), e do gene COI (caracteres 3031-3889).....	145
Anexo 4: Filogenia da partição COI construída a partir da análise de máxima verossimilhança mostrando as relações de parentesco entre as espécies da tribo Empidini e os grupos-externos (155 terminais e 905 caracteres; -lnL= 28627.52049).	164
Anexo 5: Filogenia da partição CAD1 construída a partir da análise de máxima verossimilhança mostrando as relações de parentesco entre as espécies da tribo Empidini e os grupos-externos (156 terminais e 1083 caracteres; -lnL= 41145.48103).	165
Anexo 6: Filogenia da partição CAD2 construída a partir da análise de máxima verossimilhança mostrando as relações de parentesco entre as espécies da tribo Empidini e os grupos-externos (149 terminais e 785 caracteres; -lnL= 25236.57332).	166
Anexo 7: Filogenia da partição CAD3 construída a partir da análise de máxima verossimilhança mostrando as relações de parentesco entre as espécies da tribo Empidini e os grupos-externos (135 terminais e 533 caracteres; -lnL= 15815.1428)..	167
Anexo 8: Filogenia da partição CAD4 construída a partir da análise de máxima verossimilhança mostrando as relações de parentesco entre as espécies da tribo Empidini e os grupos-externos (125 terminais e 802 caracteres; -lnL= 22712.00447).	168
Anexo 9: Filogenia da partição COI construída a partir da análise de máxima verossimilhança mostrando as relações de parentesco entre as espécies da tribo Hilarini e os grupos-externos (86 terminais e 859 caracteres; -lnL= 15581.69008). O ramo longo corresponde à <i>Philitus</i> sp.	169
Anexo 10: Filogenia da partição CAD1 construída a partir da análise de máxima verossimilhança mostrando as relações de parentesco entre as espécies da tribo Hilarini e os grupos-externos (88 terminais e 1092 caracteres; -lnL= 25285.01461)...	170
Anexo 11: Filogenia da partição CAD2 construída a partir da análise de máxima verossimilhança mostrando as relações de parentesco entre as espécies da tribo Hilarini e os grupos-externos (86 terminais e 789 caracteres; -lnL= 16468.27294).....	171

Anexo 12: Filogenia da partição CAD3 construída a partir da análise de máxima verossimilhança mostrando as relações de parentesco entre as espécies da tribo Hilarini e os grupos-externos (79 terminais e 526 caracteres; -lnL= 10041.24276)..... 172

Anexo 13: Filogenia da partição CAD4 construída a partir da análise de máxima verossimilhança mostrando as relações de parentesco entre as espécies da tribo Hilarini e os grupos-externos (75 terminais e 830 caracteres; -lnL= 15036.08277)..... 173

SUMÁRIO

CAPÍTULO I: POSIÇÃO FILOGENÉTICA DAS LINHAGENS NEOTROPICAIS DE EMPIDINI DENTRO DA SUBFAMÍLIA (DIPTERA: EMPIDIDAE: EMPIDINAE)	1
RESUMO	2
ABSTRACT	3
1. INTRODUÇÃO	4
2. OBJETIVOS.....	9
3. MATERIAL E MÉTODOS	10
3.1 Amostragem dos táxons	10
3.2 Genes.....	11
3.3 Extração de DNA, Amplificação, Purificação do Gel e Sequenciamento.....	12
3.4 Construção dos <i>contig</i> , edição e alinhamento dos nucleotídeos	13
3.5 Análises filogenéticas.....	14
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	18
5. DISCUSSÃO TAXONÔMICA	24
5.1. <i>Empidadelphpha</i> Collin, 1928	25
5.2. <i>Sphicosa</i> Philippi, 1865.....	25
5.3. <i>Clinorhampha</i> Collin, 1933.....	26
5.4. <i>Hystrichonotus</i> Collin, 1933	27
5.5. <i>Lamprempis</i> Wheeler & Melander, 1901 e <i>Opeatocerata</i> Melander, 1928.....	27
5.6. <i>Macrostomus</i> Wiedemann, 1817 e <i>Porphyrochroa</i> Melander, 1928.....	29
5.7. <i>Empis</i> Linnaeus, 1758 e <i>Rhamphomyia</i> Meigen, 1822.....	30
6. IMPLICAÇÕES BIOGEOGRÁFICAS	32
7. CONCLUSÕES	34
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
CAPÍTULO II: FILOGENIA MOLECULAR DE HILARINI (EMPIDIDAE: EMPIDINAE)	
.....	61
RESUMO	62
ABSTRACT	63

1. INTRODUÇÃO.....	64
2. OBJETIVOS.....	68
3. MATERIAL E MÉTODOS	69
3.1 Amostragem dos táxons	69
3.2 Extração de DNA, Amplificação, Purificação do Gel e Sequenciamento.....	70
3.3 Construção dos <i>contig</i> , edição e alinhamento dos nucleotídeos	70
3.4 Análises filogenéticas.....	71
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	73
5. DISCUSSÃO TAXONÔMICA	76
5.1. <i>Aplomera</i> Macquart, 1838.....	76
5.2. <i>Atrichopleura</i> Bezzi, 1909	77
5.3. <i>Deuteronista</i> Philippi, 1865	78
5.4. <i>Hilara</i> Meigen, 1822	78
5.5. <i>Hilarempis</i> Bezzi, 1905	79
5.6. <i>Hilarigona</i> Collin, 1933	80
5.7. <i>Pasitrichotus</i> Collin, 1933.....	81
5.8. <i>Thinempis</i> Bickel, 1996	81
6. IMPLICAÇÕES BIOGEOGRÁFICAS	82
7. CONCLUSÕES.....	83
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	85
ANEXOS	102

CAPÍTULO I:

POSIÇÃO FILOGENÉTICA DAS
LINHAGENS NEOTROPICAIS DE
EMPIDINI DENTRO DA SUBFAMÍLIA
(DIPTERA: EMPIDIDAE: EMPIDINAE)

RESUMO

Empidini (Diptera: Empididae: Empidinae) é um grupo diverso com 14 gêneros reconhecidos dos quais seis são linhagens endêmicas para a Região Neotropical: *Bolrhamphomyia* Rafael, *Chileramphomyia* Rafael, *Hystrichonotus* Collin, *Macrostomus* Wiedemann, *Opeatocerata* Melander e *Porphyrochroa* Melander. Apesar de alguns estudos mostrarem Empidini como sendo um grupo parafilético, muitos gêneros monofiléticos e grupos de espécies são reconhecidos. Sequências de DNA das quatro primeiras subunidades do gene nuclear CAD e a primeira subunidade do mitocondrial COI, foram usadas para inferir as relações das linhagens Neotropicais de Empidini. Tais sequências formaram uma matriz de 3926 caracteres, obtidas de 160 terminais, sendo 142 Empidini representando 10 gêneros das cinco regiões biogeográficas e 18 espécies para formar o grupo-externo. Os resultados das análises de parcimônia, máxima verossimilhança e inferência bayesiana foram altamente similares, recuperando a maioria dos agrupamentos genéricos em comum. Especificamente, todas as análises reafirmaram a monofilia de Hilarini e a parafilia de Empidini. Os Empidini da Argentina e do Chile (Região Andina), juntamente com os da Região Australiana formaram um ramo basal e não são considerados relacionados em relação aos demais Empidini. Os remanescentes Empidini Neotropias (não andinos) aparecem dentro de um único clado que inclui os gêneros *Empis* Linnaeus, *Lampremis* Wheeler & Melander, *Macrostomus*, *Opeatocerata* e *Porphyrochroa*. *Macrostomus* e *Porphyrochroa* foram reconstruídos como grupos-irmãos e linhagens monofiléticas, apesar de a identificação e localização de umas poucas espécies de ambos os gêneros ainda não estarem clara morfológicamente. *Opeatocerata* é monofilético e proximamente relacionado à *Lampremis*. Este último aparece como polifiético e com distribuição possivelmente em todo o Hemisfério Sul. Como esperado, os gêneros *Empis* e *Rhamphomyia* Meigen foram reconhecidos como sendo polifiléticos.

Palavras-chave: Empidini, *Macrostomus*, Neotropical, *Porphyrochroa*, filogenia molecular.

ABSTRACT

The tribe Empidini (Diptera: Empididae: Empidinae) is a diverse group with fourteen restricted genera, six of which are to the Neotropical region: *Bolrhamphomyia* Rafael, *Chileramphomyia* Rafael, *Hystrichonotus* Collin, *Macrostomus* Wiedemann, *Opeatocerata* Melander, and *Porphyrochroa* Melander. Although Empidini itself is likely paraphyletic many presumably monophyletic genera and species group are recognized. Here we used DNA sequences from the CAD and COI genes to infer the phylogeny of the Empidini Neotropical lineages. The sequences formed a matrix with 3926 characters obtained from 142 taxa of Empidini in 10 genera, and other 18 species of outgroups, totaling 160 terminals. The results from parcimony, maximum likelihood and bayesian analyses were largely similar, with major groupings of genera in common. Specifically, all analyses recovered a monophyletic Hilarini and a paraphyletic Empidini. Most species from Chile and Argentina (Andean region), and Australian region were found to belong to an early-branching lineage within Empidinae, and are not related with other Empidini. The remaining Neotropical Empidini (not Andean) comprises a single clade that includes *Empis* Linnaeus, *Lampremis* Wheeler & Melander, *Macrostomus*, *Opeatocerata* and *Porphyrochroa*. *Macrostomus* and *Porphyrochroa* were recovered as monophyletic sister groups, though generic placement of a few taxa was unclear morphologically. *Opeatocerata* form a monophyletic lineage and it is closely related to *Lampremis*. This last one came out as a polyphyletic genus and with possible distribution through the South Hemisphere. As expected, the genera *Empis* and *Rhamphomyia* Meigen were found to be polyphyletic.

Key words: Empidini, *Macrostomus*, molecular phylogeny, Neotropical, *Porphyrochroa*.

1. INTRODUÇÃO

Empididae (Diptera: Insecta) pertence à superfamília Empidoidea, considerada uma linhagem monofilética e grupo-irmão de Cyclorrhapha (Cumming *et al.*, 1995; Collins & Wiegmann, 2002; Sinclair & Cumming, 2006). Tradicionalmente, a superfamília foi dividida em duas famílias, o grupo parafilético “Empididae” e o monofilético Dolichopodidae. A primeira proposta com base filogenética foi feita por Chvála (1983), que dividiu a superfamília em cinco famílias: Hybotidae, Atelestidae, Microphoridae, Empididae e Dolichopodidae, mas o reconhecimento dos limites precisos destas famílias, em um nível mundial, permaneceu em debate e tal classificação foi contestada por Cumming (1989), Woodley (1989), Cumming *et al.* (1995) e Sinclair (1995) pelo número reduzido de caracteres usados e por ter se restringido ao estudo de táxons das regiões Neártica e Paleártica, omitindo diversos táxons do Hemisfério Sul, para onde a maior parte da biodiversidade é conhecida (Sinclair & Cumming, 2006).

Recentemente uma análise cladística extensa de Empidoidea e das linhagens basais de Cyclorrhapha realizada por Sinclair & Cumming (2006) resultou na divisão da superfamília em cinco famílias: Empididae, Hybotidae, Atelestidae, Brachystomatidae e Dolichopodidae *s.lat.* Esta proposta de filogenia difere significativamente da hipótese de Chvála (1983, Fig. 140), especialmente em relação aos táxons de Empididae escolhidos para a análise, muito mais diversos no último estudo. As diferenças se originam da inclusão de muitos caracteres novos, principalmente da terminália feminina e aparelho bucal, ao reconhecimento de Brachystomatidae e à transferência de várias subfamílias em Empididae. Três subfamílias passaram a ser reconhecidas em Empididae: Empidinae, Clinocerinae e Hemerodromiinae.

Schiner (1862) foi o primeiro autor a reconhecer a subfamília Empidinae, com duas tribos atualmente abrigadas, Empidini, com 14 gêneros e Hilarini, com 18. A tribo Empidini, foco deste capítulo, é um grupo cosmopolita de moscas com notável diversidade na Região Neotropical. Eles são popularmente conhecidos como *dance flies* (especialmente na América do Norte e na Europa) e são classificados como sendo uma linhagem dentro de Eremoneura – moscas com três instares larvais (Moulton &

Wiegmann, 2007; Yeates *et al.*, 2007; Trautwein *et al.* 2010; Wiegmann *et al.*, 2011). O grupo é conhecido como *dance flies* pelo característico enxame formado pelos machos ou, em algumas espécies, por fêmeas, para atrair o parceiro (Cumming, 1994); a transferência de presas como presente nupcial para a fêmea frequentemente ocorre nestes enxames. Análises filogenéticas com dados morfológicos (Daugeron *et al.*, in prep.) e moleculares (Winkler *et al.*, in prep.) que estão sendo realizadas com o objetivo de mapear tal comportamento para a toda subfamília Empidinae tem reconhecido cerca de 70 grupos monofiléticos e diversas linhagens em nível mais elevado, algumas delas contradizendo a atual classificação genérica.

A tribo Empidini ocorre em todas as seis regiões biogeográficas (Afrotropical, Australiana, Neártica, Neotropical, Oriental e Paleártica), mas com uma diversidade muito maior no Hemisfério Sul. *Empis* Linnaeus e *Rhamphomyia* Meigen são os únicos gêneros da tribo considerados cosmopolitas e com ocorrência no Hemisfério Norte (Regiões Neártica e Paleártica), embora estes pareçam ser linhagens exclusivamente laurásicas. Como já conhecido para outros táxons neotropicais (por exemplo: Curculionidae: Morrone, 1994; Muscidae: Nihei & Carvalho, 2007, Löwenberg-Neto & Carvalho, 2009), os Empidinae neotropicais formam dois grupos distintos: um presente nas regiões temperadas do Chile e Argentina (Região Andina de Morrone, 2001), e outro presente nas partes mais quentes do neotrópico. O grupo andino é formado principalmente pela tribo Hilarini, mas também inclui os gêneros *Clinorhampha* Collin, *Hystichonotus* Collin e *Sphicosa* Philippi, reconhecidos na tribo Empidini.

A afinidade entre os táxons andinos e os presentes na Austrália e Nova Zelândia também é clara, como já evidenciada para outros grupos taxonômicos (Chironomidae: Brundin, 1966; Anisopodoidea: Amorim & Tozoni, 1994). Por exemplo, espécies da América do Sul e da Nova Zelândia têm sido acomodadas no pequeno gênero *Empidadelpha* Collin (3 espécies), e o recentemente revisado grupo *Empis macrorrhyncha* (Daugeron *et al.*, 2009) inclui espécies australianas bem como espécies da América do Sul. Um outro grupo é distribuído mais tropicalmente e inclui quatro gêneros: *Macrostomus* Wiedemann, *Opeatocerata* Melander, *Porphyrochroa* Melander, e *Lampremis* Wheeler & Melander, além das espécies Neotropicais de *Empis*. Em contraste com as afinidades gonduânicas dos Empidini andinos, estes gêneros

compartilham características das espécies de *Empis* e *Rhamphomyia* presentes nas regiões temperadas do Hemisfério Norte (Rafael & Cumming, 2004), embora o relacionamento entre eles ainda não seja claro.

Empidini tem 1216 espécies em 14 gêneros considerados taxonomicamente válidos (Tabela 1), 12 dos quais ocorrem na Região Neotropical (onde são encontradas 205 espécies), aqui amplamente definida, incluindo as áreas temperadas (Região Andina); apenas *Edenophorus* Smith e *Rhamphella* Malloch não ocorrem nesta região. Dos 12 gêneros, seis são linhagens exclusivamente neotropicais: *Bolrhamphomyia* Rafael (1 espécie), *Chilerhamphomyia* Rafael (1 espécie), *Hystrichonotus* (1 espécie), *Macrostomus* (19 espécies), *Opeatocerata* (4 espécies) e *Porphyrochroa* (54 espécies). Espécies de *Clinorhampha*, *Lampremis* e *Sphicosa* foram identificadas para outras regiões além da Neotropical (tabela 2), apesar de ainda não terem sido descritas. Em nível mundial, a maioria das espécies de Empidini está alocada nos grandes gêneros *Empis* e *Rhamphomyia*, tradicionalmente separados pela presença ou ausência da veia R_{4+5} bifurcada (Winkler *et al.*, in prep.).

A presente classificação genérica para os Empidini neotropicais foi desenvolvida em um importante – embora não atual – trabalho realizado por Collin (1933) com os empidídeos do Chile. Collin transferiu três espécies que apresentavam a veia R_{4+5} bifurcada, como comumente ocorre em *Empis*, mas com a probóscide distintamente horizontal, para o gênero *Sphicosa*. Outras três espécies, também com a probóscide horizontal, mas com a veia R_{4+5} simples (assim como ocorre em *Rhamphomyia*), foram acomodadas em um novo gênero, *Clinorhampha*. A partir de então, os quatro gêneros neotropicais que apresentam a veia R_{4+5} simples – *Clinorhampha*, *Macrostomus*, *Porphyrochroa* e *Rhamphomyia* – passaram a ser tratados como linhagens próximas (Wiegmann, comunicação pessoal), o que, de fato, não foi demonstrado filogeneticamente. Collin também dividiu as espécies chilenas de *Empis* em seis principais agrupamentos de espécies. Quatro outros gêneros neotropicais com a veia R_{4+5} não bifurcada (*Macrostomus* e *Porphyrochroa*) ou bifurcada (*Lampremis* e *Opeatocerata*), estão distribuídos em regiões mais quentes, fora da Região Andina, e foram citados no trabalho de Collin, embora não tenham sido estudados por ele. No momento, a tribo Empidini é tratada como sendo parafilética com 2-3 surgimentos

dentro da subfamília (Sinclair & Cumming, 2006 [Fig. 1]; Daugeron *et al.*, in prep., Winkler *et al.*, in prep.), e por causa disso a classificação de toda a subfamília necessita de revisão. Moulton e Wiegmann (2007) propuseram Empidini como sendo monofilética, entretanto, no estudo foram incluídas apenas cinco espécies de Hilarini (três gêneros dos 18) e seis de Empidini (três gêneros dos 14: *Empidadelpha*, *Empis* e *Rhamphomyia*, sendo apenas o exemplar de *Empidadelpha* um empidíneo Neotropical), o que não pareceu suficiente para testar a monofilia dos gêneros, que contém um número reconhecidamente superior de espécies.

Dentro de Empidini, o “tradicional” e grande gênero cosmopolita *Empis* é sem dúvida polifilético, com algumas espécies da parte temperada da América do Sul mais proximamente relacionadas com Hilarini do que com os Empidini remanescentes (Sinclair & Cumming, 2006). Além disso, a perda da veia R_{4+5} bifurcada que usualmente distingue *Rhamphomyia* de *Empis* é agora conhecida como tendo aparecido independentemente dentro de múltiplas linhagens de Empidinae. Esta consideração torna ainda mais difícil a identificação e a posição de algumas poucas espécies neotropicais de *Rhamphomyia* e o seu relacionamento com *Macrostomus* e *Porphyrochroa*. Na tentativa de esclarecer estes relacionamentos, Rafael (2010) acomodou duas espécies descritas em *Rhamphomyia* para o Chile e para Bolívia em dois novos gêneros, *Chilerhamphomyia* e *Bolrhamphomyia*, respectivamente, e apresentou caracteres da terminália masculina que os separam de *Rhamphomyia*, *Macrostomus* e *Porphyrochroa*.

Apesar do número relativamente modesto de espécies neotropicais descritas em Empidini – 50 nos seis gêneros exclusivamente Neotropias, e outras cerca de 90 espécies descritas em *Empis* e *Rhamphomyia* – existe um número muito maior para serem descritas em museus do Brasil e do mundo. Por exemplo, no Canadian National Collection (CNC, Ottawa, Canadá), há mais de 100 espécies novas em *Porphyrochroa* que ainda não foram descritas (M. Mendonça, pers. obs.). Por outro lado, gêneros monotípicos, como *Hystrichonotus*, podem ter mais espécies para serem descritas e nomeadas, entretanto não houveram trabalhos desde que estes foram descritos. As duas linhagens com maior riqueza de espécies na Região Neotropical, *Macrostomus* e *Porphyrochroa*, estão recebendo maior atenção neste estudo devido à sua grande

abundância e diversidade e para que a sua monofilia e relacionamento sejam testadas. Até o presente momento este nunca foi o objetivo explícito de nenhum estudo filogenético, embora tais gêneros sejam claramente estreitamente relacionados (Rafael & Cumming, 2004).

Porphyrochroa Melander (1928) foi negligenciado ao longo do tempo até que Smith (1967) o sinonimizou com *Macrostomus* baseando-se em caracteres que hoje são considerados sinapomórficos de ambos os gêneros. O estudo das espécies-tipo de *Porphyrochroa* e *Macrostomus* mostrou diferenças significativas, e que ambos pertencem a linhagens monofiléticas distintas, entretanto próximas entre si (Rafael & Cumming, 1998). Rafael (2001) revalidou o gênero *Porphyrochroa*. *Macrostomus* e *Porphyrochroa* tem caracteres morfológicos bem definidos e a monofilia de ambos está bem estabelecida, sendo considerados grupos-irmãos (Rafael & Cumming, 2004). Desde então muitas espécies foram descritas em ambos os gêneros: Rafael e Ale-Rocha (2002) descreveram cinco espécies para a República Dominicana; Rafael e Cumming (2004), transferiram 25 espécies incluídas em *Rhamphomyia* e em *Macrostomus* (ver catálogo de Smith, 1967) para *Porphyrochroa*; Rafael e Cumming (2006, 2009 e 2010) descreveram novas espécies de *Macrostomus* da Amazônia; Mendonça *et al.* (2007 e 2008) fizeram uma revisão de *Porphyrochroa* da Amazônia; e Mendonça (2010) descreveu outras espécies para o sul do Brasil. Atualmente são reconhecidas 54 espécies no gênero *Porphyrochroa* e 23 em *Macrostomus*. A monofilia de *Porphyrochroa* está baseado nas seguintes sinapomorfias (entre parênteses, como encontrado em *Macrostomus*): tergito 8 do macho com cerdas restritas à área pósterodorsal (espalhadas por todo tergito); tergito 7 do macho com protuberância pósteroventral (ausente); abdômen azul ou azul-esverdeado com reflexos metálicos (*Macrostomus* e outros gêneros próximos sem este padrão) (Rafael & Cumming, 2004).

2. OBJETIVOS

Inferir os relacionamentos filogenéticos entre *Lamprempis*, *Macrostomus*, *Opeatocerata* e *Porphyrochroa* e os demais gêneros neotropicais (*Empis* e *Rhamphomyia*) com relação as outras linhagens de Empidini incluídas através da reconstrução filogenética molecular. Além disso, objetiva-se discutir a posição de *Clinorhampha*, *Empidadelpha*, *Hystrichonotus* e *Sphicosa*, os quais tem ocorrência na parte temperada do Hemisfério Sul, de modo a oferecer suporte para que interpretações sobre a diversificação morfológica e ecológica possam ser futuramente esclarecidas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Amostragem dos táxons

Exemplares adultos usados na análise foram coletados por vários colaboradores entre 1999 e 2010 em todas as seis regiões biogeográficas em que o grupo ocorre [número de espécimens incluídos] (Afrotropical [7], Australiana [4], Neártica [20], Neotropical [83], Oriental [4] e Paleártica [42]). Os espécimes foram preservados diretamente em etanol 95-100%GL e armazenados a -20°C. Os *vouchers* e material associado encontram-se depositados nas seguintes instituições: Canadian National Collection (CNC, Ottawa, Canadá); Coleção Pe. Jesus Santiago Moure do departamento de Zoologia da Universidade Federal do Paraná (DZUP, Curitiba, PR); Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA, Manaus, AM); e North Carolina State University Insect Collection (NCSU, Raleigh, EUA) (Tabela 1).

O tratamento taxonômico utilizado segue a proposta de Sinclair e Cumming (2006). A tabela 2 apresenta as espécies utilizadas na análise, sua posição taxonômica, as instituições onde os *vouchers* foram depositados, os códigos dos mesmos, o país de procedência e a região biogeográfica correspondente (o anexo 1 mostra os dados completos de coleta para a maioria das espécies usadas nos dois capítulos deste trabalho). Ao todo 142 espécies de Empidini representando 10 dos 12 gêneros que ocorrem na Região Neotropical foram incluídos na análise (*Clinorhampha*, *Empidadelpha*, *Empis*, *Hystichonotus*, *Lamproempis*, *Macrostomus*, *Opeatocera*, *Porphyrochroa*, *Rhamphomyia* e *Sphicosa*). Tais gêneros foram obtidos de uma variedade de localidades ao longo da Região Neotropical. Para gêneros cosmopolitas e com grande número de espécies como *Empis* e *Rhamphomyia*, foram incluídas espécies de diversas regiões e de diferentes subgêneros e grupos de espécies (Tabela 2). Apenas os gêneros neotropicais *Bolrhamphomyia* e *Chilerhamphomyia* não foram incluídos. Tais gêneros foram descritos por Rafael (2010) para receber *Bolrhamphomyia tympanica* (Bezzi) e *Chilerhamphomyia carenifera* (Bezzi) respectivamente, as quais foram os únicos representantes disponíveis coletados em

1902 e 1903, o que as torna indisponíveis para obtenção de DNA. Todavia, uma vez que estes gêneros monotípicos foram descritos com base em espécies previamente nomeadas em *Rhamphomyia*, seria esperado que estas linhagens saíssem em clados com outras espécies deste gênero.

A identificação de grupos megadiversos como *Empis* e *Rhamphomyia* e dos demais gêneros foi baseada na taxonomia corrente e foi feita por especialistas que estão trabalhando em conjunto no projeto intitulado “Sexual Characters and Diversification in Empidine Dance Flies”, financiado pela National Science Foundation (DEB-PEET 9521925, 9977958). O grupo é formado pela autora desta tese e pelos seguintes pesquisadores: Brian Wiegmann (NCSU), Bradley Sinclair (CNC), Christopher Daugeron (MNHN), Isaac Winkler (NCSU), Jeffrey Cumming (CNC), Kenneth Collins (Fullerton College), Scott Brooks (CNC) e Steven Turner (NCSU).

O grupo-externo foi formado por sete espécies reconhecidas em grupos proximalmente relacionados à Empidinae: *Hyperperacera nemoralis* Philippi (Brachystomatidae: Trichopezinae), *Oropezella* sp. Collin (Hybotidae: Ocydromiinae), três espécies do grupo definido por Sinclair e Cumming (2006) como *incertae sedis* dentro de Empidoidea: *Hesperempis* sp. Melander, *Hormopeza* sp. Zetterstedt e *Philetus* sp. Melander e outras duas espécies de *incertae sedis* dentro de Empidoidea: *Iteaphila* sp. Zetterstedt e *Oreogeton scopifer* Coquillett. Outras 11 espécies de Hilarini em cinco gêneros (*Aplomera* Macquart [1], *Atrichopleura* Bezzi [1], *Hilara* Meigen [6], *Hilarempis* Bezzi [2], e *Hilarigona* Philippi [1]) completaram o grupo-externo (Tabela 2).

3.2 Genes

Sequências nucleotídicas da proteína mitocondrial de codificação genética Citocromo Oxidase I (COI) e de quatro fragmentos do gene nuclear CAD (CAD1, CAD2, CAD3 e CAD4) foram obtidas conforme os procedimentos descritos na seção 3.3. COI possui características que o torna particularmente adequado para estudos evolutivos (Lunt *et al.*, 1996). COI também é usado extensivamente em análises filogenéticas à nível específico e populacional e para diversos níveis de divergências taxonômicas (Caterino *et al.* 2000; Scheffer & Wiegmann, 2000; Farrell, 2001). Diversos autores, entretanto, advertem que os dados podem ser saturados para níveis taxonômicos mais

altos (Simon *et al.* 1994, Bernasconi *et al.* 2000). Os 905 pb de COI extraídos das amostras de empidineos compreendem regiões *barcoding* do gene, que possui cerca de 1400 pb na sua totalidade.

O gene CAD é uma proteína nuclear de codificação genética que foi recentemente caracterizada para utilização como um marcador filogenético em análises de elevado nível taxonômico em Diptera e como uma ferramenta para reconstrução de relacionamentos dentro de Eremoneura (Moulton & Wiegmann, 2004). As inferências filogenéticas em Eremoneura propostas a partir do gene CAD corroboram hipóteses com dados morfológicos e com DNAr 28S. As quatro regiões de CAD totalizam 3204 pares de bases, tendo o primeiro fragmento 1073 pb, o segundo 783 pb, o terceiro 528 pb e o quarto 820 pb.

3.3 Extração de DNA, Amplificação, Purificação do Gel e Sequenciamento

Os ácidos nucléicos genômicos foram extraídos de espécimes inteiros preservados em etanol 95% e mantidos à -20°C. Para a maioria das espécies e sempre que possível, o macho foi escolhido para a extração de DNA pela importância da genitália masculina para a identificação de espécies.

O protocolo de extração aplicado para ambos os genes baseia-se em proteinase K com concentração de 20 mg/ml fornecida em um tampão de armazenamento especialmente formulado. O DNA foi extraído usando o kit DNeasy® (Quiagen, Inc) que atua por homogeneização. Às amostras, foram adicionados 180 µl de tampão ATL e 20 µl de proteinase K, que foram homogeneizadas e incubadas em uma placa térmica a 55°C por um intervalo de 12-36 horas. Após o período de incubação, adicionou-se 200 µl do tampão AL e as amostras foram incubadas por mais 10 minutos a 70°C. O DNA foi lavado com 200 µl de etanol 100%. Outras lavagens foram feitas adicionando-se 500 µl do tampão AW1 e 500 µl do tampão AW2. Por fim, a eluição com 30 µl de tampão AE garantiu a recuperação e a estabilidade do DNA eluído, que foi armazenado em -86°C.

O DNA extraído foi amplificado através das reações de PCR que foram realizadas com Ex Taq™ TaKaRa (Mirus Corp., Madison, WI) com volume total de 49 µl

(para cada amostra). O protocolo para amplificação do gene COI conteve 37.8 µl de ddH₂O, 5 µl de 10x do tampão de PCR, 4 µl de 10 mM de dntps, 1 µl de cada primer de 10 pmol/µl (1 µl do iniciador 3'-5' e 1 µl do iniciador 5'-3'), 0,25 µl da Taq polimerase e 1 µl do DNA. Para amplificação do gene CAD o protocolo acima foi alterado por conta da adição de 2 µl de MgCl₂ de 25 mM e 2 µl de cada primer, o que fez com que o volume de ddH₂O diminuísse para 33.8 µl. Os oligonucleotídeos designados como iniciadores (ver Tabela 3) para amplificar Citocromo Oxidase subunidade I (COI) (Simon *et al.* 1994) e CAD1, CAD2, CAD3 e CAD4 (Moulton & Wiegmann, 2004) foram sintetizados por Sigma Aldrich® (Woodlands, TX). Para o COI o anelamento ocorre a 45°C e a extensão a 72°C durante 30 ciclos (50 s a 95°C, seguido de 29 ciclos de 10 min e 6 s [1 s a 98°C, 5 s a 45°C e 10 min a 72°C] e finaliza a 72°C por mais 7 min). Para CAD, foi utilizado o método de amplificação conhecido como *touchdown* onde o anelamento ocorre a 52°C por 5 ciclos + 51°C por 7 ciclos + 45°C por 36 ciclos. O método detalhado consiste de desnaturação a 94°C por 4 min seguido por 5 ciclos de 2 min (30 s a 94°C, 30 s a 52°C e 1 min a 72°C), 7 ciclos de 2 min e 30 s (30 s a 94°C, 1 min a 51°C e 2 min a 72°C) e 36 ciclos de 2 min e 20 s (30 s a 94°C, 20 s a 45°C e 1 min e 30 s a 72°C); o final a extensão ocorre durante 3 min a 72°C.

Os produtos da PCR foram extraídos a partir do gel de agarose, purificados com o Qiaquick Gel Extraction Kit (QIAGEN, Inc.) e o BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems) foi usado para as reações de sequenciamento. Todo o procedimento laboratorial foi realizado no Dipteran Molecular Systematics Lab do Dr. Brian M. Wiegman, na North Carolina State University (NCSU - Raleigh, NC, EUA) e os arquivos das sequências foram obtidos no NCSU Genomic Sciences Laboratory.

3.4 Construção dos *contigs*, edição e alinhamento dos nucleotídeos

A montagem dos *contigs* e a edição das 722 sequências de nucleotídeos para cada terminal usadas neste capítulo foi realizada utilizando o software Sequencher® v4.9 (Gene Codes Corporation, 2009).

A confirmação das sequências foi efetuada através da comparação das fitas complementares de DNA. O alinhamento do gene COI e das quatro regiões do gene CAD foi feito manualmente de acordo com a tradução de aminoácidos utilizando o Sequence Alignment Editor (Se-Al) v2.0a11 (Rambaut, 2002). Regiões com grande variabilidade, para os quais a atribuição *ad hoc* de homologia posicional afetaria o resultado filogenético, foram excluídos das análises bem como as posições de alinhamento ambíguo. Tal procedimento foi realizado a partir de conhecimento prévio das sequências, baseando-se no método *Jump-starting alignment*, onde um alinhamento prévio é usado. Em Empidinae há uma única posição intrônica no gene CAD, localizada no fragmento 6, o qual não foi incluído nas análises aqui realizadas. Os alinhamentos obtidos para cada gene foram concatenados em uma única matriz de dados através do programa Mesquite v2.74, que ao final apresentou 3926 caracteres (anexo 2).

Os limites dos conjuntos de dados referentes às sequências de cada gene foram reconhecidos e identificados em duas partições discriminando o gene nuclear do mitocondrial: O fragmento CAD, composto pelos caracteres entre 1 e 3021 corresponde às regiões entre os iniciadores 54F e 1098R e o gene mitocondrial COI, que compõe os caracteres entre as posições 3022 e 3926 e corresponde às regiões entre os iniciadores 1490F e 2329R. Esta divisão dos dados em partições foi baseada no pressuposto de que as sequências pertencentes a cada gene evoluem como unidades discretas.

3.5 Análises filogenéticas

A matriz final de dados moleculares concatenada com os dois genes contém 3926 caracteres nucleotídicos alinhados (anexo 2), dos quais 1934 são caracteres filogeneticamente informativos para parcimônia, 1653 são constantes e 339 são considerados variáveis e filogeneticamente não informativos para parcimônia. Os *gaps* foram tratados como dados ausentes e todos os caracteres tiveram igual peso em todas as análises.

O conjunto de dados foi analisado através de três critérios para inferência filogenética: parcimônia (MP), máxima verossimilhança (MV) e inferência bayesiana (IB) na tentativa de explorar o sinal filogenético (grau em que os clados proximamente

relacionados são mais similares do que o esperado por acaso) dos dados usando técnicas com diferentes propriedades. Além das análises realizadas com todos os genes combinados, foram também realizadas análises individuais de cada gene (Anexos 4-8). Segundo a literatura, a variação da taxa de substituição nucleotídica nas duas primeiras posições do códon é menor do que a da terceira posição, o que as tornam mais informativas para inferências filogenéticas (Page & Holmes, 2006). Entretanto, todas as três posições foram incluídas nas presentes análises. Quando uma determinada sequência não pode ser obtida para um terminal, estes receberam dados faltantes em suas respectivas partições. O enraizamento ocorreu entre *Oreogeton scopifer* (*Incertae sedis*, Empididae) e *Hyperperacera nemoralis* (Brachystomatidae: Trichopezinae).

As análises de parcimônia foram realizadas no programa Paup* 4.0b10 (Swofford, 2002) empregando uma busca heurística com 1000 réplicas de busca de adições aleatórias de táxons com o uso de rearranjo de ramos do tipo *tree bisection-reconnection* – TBR. Em todos os casos, os seguintes critérios foram utilizados: número máximo de árvores ilimitado (automaticamente acrescentado em mais 100), todos os caracteres foram considerados não ordenados, a opção *steepest descent* desativada, ramo colapsado quando o comprimento for zero e opção *MulTrees* em efeito. O programa Paup* também foi utilizado como ferramenta para análise da proporção de bases em cada um dos genes utilizados.

As análises de máxima verossimilhança (MV) foram conduzidas com o programa Garli v2.0 (Zwickl, 2006). Essa versão do Garli, lançado em abril de 2011, permite a implementação de diferentes modelos de substituição para cada partição de uma mesma matriz. Para a implementação, basta indicar ao programa (através do arquivo garli.conf) como dividir os dados e quais modelos a serem aplicados. Dez mil gerações foram conduzidas em cinco réplicas, sendo a melhor árvore salva a cada 100 árvores obtidas. O suporte para os nós foi estimado através de análise de *bootstrap* não paramétrico (Felsenstein, 1985) que foram executadas com buscas de 500 réplicas com adição simples das sequências.

Cada uma das duas partições recebeu uma indicação de modelo diferente pelos critérios de informação utilizados no programa jModelTest v0.1.1 (Posada, 2008). Os

critérios do programa - *Akaike information content* (AICc), *Bayesian information content* (BIC), *likelihood ratio tests* (LRT) e *Decision theory* (DT) (Posada & Buckley, 2004; Sullivan & Joyce, 2005) – determinaram ser o modelo HKY+I+ Γ o mais indicado para a partição do gene mitocondrial COI; para a partição do gene nuclear CAD, o modelo indicado foi o GTR+I+ Γ . O jModelTest auxilia a escolha de um modelo de evolução apropriado para os dados e foram realizados através de uma série de testes de razões de máxima verossimilhança (LRTs – *likelihood ratio tests*), baseados em uma árvore teste de *neighbor joining*. O modelo HKY+I+ Γ (Hasegawa, Kishino e Yano, 1985; I = proporção de sítios invariáveis; Γ (parâmetro gamma) = heterogeneidade de taxa de substituição entre as posições) considera que a frequência de todas as bases é desigual ($\pi_A \neq \pi_C \neq \pi_G \neq \pi_T$) e que transições e tranversões possuem taxas de substituição diferentes. Já o modelo GTR+I+ Γ (GTR= *general time reversible model*; Rodríguez *et al.*, 1990; Yang *et al.*, 1994) considera o máximo de variabilidade existente no conjunto de dados, ou seja, a frequência de todas as bases é diferente, bem como todos os seis pares de substituição nucleotídica (A-C \neq A-G \neq A-T \neq C-G \neq C-T \neq G-T).

A análise bayesiana foi realizada usando o software MrBayes v3.1.2 (Huelsenbeck & Ronquist, 2001). Assim como para as análises de máxima verossimilhança, o conjunto de dados foi particionado em duas regiões, correspondentes a do gene nuclear (CAD) e a do mitocondrial (COI), sendo estes analisados sob os mesmos modelos de substituição particionados descritos acima (HKY+I+ Γ para o COI e GTR+I+ Γ para o CAD). O algoritmo MCMCMC (*Metropolis-coupled Markov Chain Monte Carlo*) foi utilizado para estimar a probabilidade posterior dos clados encontrados. Os dados foram analisados em 2 corridas simultâneas (*Nruns*=2) por 10 milhões de gerações (*Ngen*= 10^7). Para cada geração, 4 cadeias foram executadas (*Nchains*=4), sendo que 25% das árvores geradas pela primeira cadeia (fria) foram ignoradas (*burn-in*=0.25). As demais 3 cadeias são aquecidas, num sistema de aquecimento gradual e progressivo usado pelo MrBayes no qual cada cadeia *i* é aquecida aumentando a sua probabilidade posterior à potencia $1/(1+i.\lambda)$ onde λ é a temperatura controlada pelo parâmetro *Temp*. A frequência de amostragem da cadeia foi ajustada para 100 ciclos, com os filogramas sendo salvos a cada 1000 gerações. As

árvores obtidas nas análises de inferência bayesiana, máxima verossimilhança e parcimônia foram visualizadas e editadas no programa FigTree 1.3.1 (Rambaut, 2009).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os relacionamentos entre as linhagens neotropicais de Empidini e a sua posição na topologia da subfamília são verificados. Ao todo, 722 sequências foram obtidas para este capítulo (Tabela 4); as sequências de CAD para 155 táxons foram obtidas para o presente trabalho, enquanto sequências de cinco táxons foram incluídas de estudos prévios e obtidas do GenBank (ver tabela 4 para número de acesso).

Nas análises do gene COI (Anexo 4), os relacionamentos se mostraram fracamente resolvidos para a maioria dos grupos e o resultado não foi satisfatório, tendo em vista que tal gene tem alta taxa de mutação sendo pouco informativo para inferir relações de parentesco em ramos com divergências de datação mais antiga. Danforth *et al.* (2005) argumentam que a utilização de genes mitocondriais para estudos de filogenia de insetos em níveis supraespecíficos não seria recomendada porque os padrões de substituição destes genes levariam a níveis significativos de homoplasia. Além disso, genes mitocondriais possuem grande predominância dos nucleotídeos A/T na terceira posição (Mooers & Holmes 2000; Lin & Danforth 2004). Embora não tenha sido realizada a caracterização das posições separadamente, encontrou-se uma forte predominância destas bases no gene mitocondrial analisado. Lin & Danforth (2004) sugerem que o foco dos estudos filogenéticos de insetos derivados de dados moleculares, deva privilegiar a utilização de genes nucleares. Entretanto, independente desta discussão envolvendo a eficiência dos genes nucleares, a utilização de partições envolvendo diferentes funções e origens parece ser adequada para os estudos filogenéticos (Reed & Sperling 1999; Cognato & Vogler 2001). Assim, a utilização tanto de genes mitocondriais quanto nucleares parece ser importante para o estudo do relacionamento entre gêneros de Empidini. As análises de relacionamento inferidas através de cada partição separadamente (COI, CAD1, CAD2, CAD3 e CAD4) podem ser visualizada nos anexos 4-8. À medida que os genes nucleares foram adicionados às análises, as topologias inicialmente obtidas com somente um gene apresentaram-se melhor resolvidas e mais bem suportadas. Dentre as porções do gene nuclear CAD, a primeira e a segunda pareceram ser as mais informativas para níveis taxonômicos elevados (Anexos 5-6), e foram as que apresentaram os melhores

relacionamentos à nível genérico. As porções 3 e 4 (Anexos 7-8) resolveram relações interespecíficas e por esse motivo é que estes foram sequenciados especialmente para grupos com muitas espécies adicionadas, como *Empis*, *Macrostomus*, *Porphyrochroa* e *Rhamphomyia*. Tendo em vista que os melhores resultados foram obtidos através das análises realizadas com todos as partições (COI, CAD1, CAD2, CAD3, e CAD4), as árvores filogenéticas recuperadas a partir destas análises são as que serão utilizadas para a discussão dos resultados.

A análise de parcimônia com todos os genes encontrou oito árvores igualmente parcimoniosas (L [comprimento] = 30446, CI [índice de consistência] = 0.14, RI [índice de retenção] = 0.45). O consenso de tais árvores mostra uma politomia nas linhagens basais de Empidini bem como nos ramos onde se encontram as espécies de *Macrostomus* e *Porphyrochroa* (Fig. 2). Entretanto, alguns estudos filogenéticos de alto nível taxonômico usando sequências do gene CAD tem mostrado que análises de parcimônia que incluem a terceira posição do códon podem resultar em uma espúria posição filogenética dos táxons, provavelmente devido à saturação ou composição de bases (Moulton & Wiegmann, 2004; Bertone *et al.*, 2008). Contudo, a análise de parcimônia reconstruiu uma árvore que é similar quando comparada com a topologia gerada pelas análises probabilísticas de máxima verossimilhança (Fig. 3), e inferência bayesiana (Fig. 5) (ambas também com todos os genes), as quais incorporaram parâmetros de modelo evolutivo molecular específico que respondem por diferenças nas taxas de mutação entre as posições, mostrando que no grupo estudado aqui as três posições do códon possuem sinal filogenético para reconstruir os relacionamentos entre as linhagens.

Os valores de bootstrap foram obtidos ao longo do filograma de máxima verossimilhança e plotados no filograma da análise de inferência bayesiana (Fig. 4), onde também se encontram os valores das probabilidades posteriores como suporte de ramos; deste modo, ambos os suportes podem ser visualizados e comparados. Os suportes da figura 4 estão indicados nos níveis hierárquicos taxonomicamente mais elevados (subfamília e tribos), enquanto que os valores para as demais linhagens estão indicados nos filogramas mostrados nas figuras 5-8.

A tradicionalmente reconhecida subfamília Empidinae foi reconstruída como uma linhagem monofilética, com alto suporte de ramos (91% de bootstrap e 0.98 de probabilidade posterior, Fig. 4). A tribo Hilarini (amostrada por 11 espécies de cinco gêneros) é reconhecida como sendo monofilética (Fig. 4) e será tratada detalhadamente no capítulo dois desta tese (*Filogenia Molecular de Hilarini (Empididae: Empidinae)*).

Com relação à tribo Empidini, todas as análises geraram filogramas mostrando a parafilia da tribo (Figs. 2-4), resultado também corroborado por estudos com dados morfológicos (Daugeron & Winkler, 2010; Daugeron, in prep.). A filogenia recuperou dois ramos principais em Empidini. Para melhor visualização dos resultados, o filograma recuperado foi dividido em quatro grupos, os quais estão mostrados nas figuras 5-8.

O primeiro grupo, destacado na figura 5, mostra as afinidades existentes entre as espécies basais que saem no primeiro ramo de Empidini e que ocorrem no sul da América do Sul, Região Andina e Australiana, o que sugere um relacionamento gonduânico originado no supercontinente do Hemisfério Sul durante o período Jurássico ou Cretácio inferior, relacionamento este já sugerido por Plant (1995). Dois gêneros deste primeiro grupo, *Hystrichonotus* e *Clinorhampha* são vistos como monofiléticos. Quatro linhagens de Empidini são identificadas (Fig. 5): a primeira é formada pelas espécies *Empidadelpha sobrina* e *Empis fulvicolis* (100; 0.99), pertencente ao grupo Macrorrhyncha, ambos da Região Andina (Chile e Argentina, respectivamente); *Sphicosa* sp. 1 da Austrália, *Hystrichonotus revelator* e *Hystrichonotus* sp., ambos do Chile, formam a segunda linhagem (90; 0.97). A terceira linhagem (94; 0.97) é composta por *Sphicosa* sp. 2 (Chile), *Sphicosa* sp. 3 (Brasil) e as três espécies de *Clinorhampha* usadas, sendo uma da Argentina, uma da Austrália, e uma do Chile. A linhagem seguinte (99; 0.97) tem *Empis nigricolor* (Chile) na base, seguido por um ramo o qual tem *Rhamphomyia interseta* (Argentina) como grupo-irmão de outras seis espécies de *Empis*, da Argentina, da Austrália e do Chile (92; 0.96). Duas espécies de *Empis* do grupo Macrorrhyncha (*Empis macrorrhyncha*), do Chile e *Empis* sp. 1, da Argentina formam um grupo (100; 0.99); das outras quatro espécies, *Empis* sp. 2 da Austrália é o grupo-irmão de três espécies da Argentina (*Empis*

languescens, *Empis perpusilla* e *Empis copiosa*) também tem 100% de suporte de bootstrap e 0.99 de probabilidade posterior (Fig. 5).

O segundo grupo (98, 0.98; Fig. 6) é formado pelas linhagens que estão na base do segundo ramo de Empidini. A maioria das linhagens que saem deste grupo é formada por espécies neotropicais de *Empis* e *Rhamphomyia*. O ramo basal (99; 0.92) é formado por uma espécie de *Empis* próxima à *Empis recordabilis* (Chile), *Rhamphomyia* sp. 1 (Argentina), *Empis* sp. 7 (Chile) e *Empis lateralis* (Chile). *Rhamphomyia* (*Amydroneura*) *erythrophthalma* (França) sai como irmã de duas espécies de *Empis* da Bolívia (*Empis* sp. 3 e *Empis* sp. 4) com 100% de suporte de bootstrap e 0.98 de probabilidade posterior. Este segundo grupo também é fortemente representado pelas espécies com distribuição no Hemisfério Sul.

O terceiro grupo (Fig. 7; 0.77) é formado principalmente por espécies de *Empis* e *Rhamphomyia* das regiões Neártica e Paleártica e por algumas poucas espécies das regiões Afrotropical, Neotropical e Oriental. Nossas análises com dados moleculares indicam polifilia para ambos os gêneros, que são os únicos cosmopolitas da tribo Empidini e com ocorrência na Região Holártica. Dentro do gênero *Rhamphomyia*, alguns subgêneros podem ser considerados monofiléticos, como é o caso do *Argyremphis*, já que as duas espécies usadas, uma dos EUA e outra da Tailândia, compartilham 100% de suporte de bootstrap e 0.99 de probabilidade posterior. Estas espécies aparecem como grupo-irmão do grupo formado pelas espécies de *Empis* do subgênero *Coptophlebia*. O clado formado por espécies de *Rhamphomyia* (*Pararhamphomyia*) da Coreia, Costa Rica e da França possui alto suporte de ramos (100% e 0.99), mas duas espécies do subgênero saíram em outros dois clados. O subgênero *Megacyttarus*, de *Rhamphomyia*, também representado por uma espécie da Coreia e outra da França, tem 100% de suporte de bootstrap e 0.99 de probabilidade posterior. Por último, o subgênero *Holoclera*, com espécies dos EUA e da França, está bem suportado (98; 0.97), embora uma das quatro espécies (*R. (Holoclera) flaviventris*, da França) esteja fora do clado formado pelas outras três (Fig. 7).

O gênero *Empis*, embora polifilético nas análises realizadas, muito provavelmente apresentará espécies formando linhagens monofiléticas após uma cuidadosa revisão taxonômica incluindo *Rhamphomyia*. A espécie-tipo de *Empis*, *Empis*

pennipes L., aqui incluída, aparece em um clado com outras espécies do subgênero *Empis* e apresenta alto suporte (100; 0.98; Fig. 7), o que indica ser o gênero provavelmente um linhagem natural para a Laurásia, já que todas as espécies do Hemisfério Norte aparecem em um mesmo clado, com espécies de *Rhamphomyia*. Embora o grupo formado pelas espécies Neotropicais de *Empis* não pareça ser monofilético, tais espécies são claramente mais filogeneticamente relacionadas entre si do que com as espécies das outras regiões (Figs. 7-8). Na base do terceiro grupo (Fig. 7), as espécies *Empis* sp. 5 e *Empis* sp. 12, da Costa Rica tem excelente suporte (100%; 0.98), assim como no ápice, onde as espécies *Empis* sp. 11 (Costa Rica), *Empis* sp. 14 (Guiana Francesa) e *Empis* sp. 20 (Peru) apresentam um comprimento de ramo evidentemente maior e com alto suporte de ramos (100; 0.99).

O último grupo (Fig. 8), suportado por 0.92 de probabilidade posterior, é de fato o clado Neotropical da tribo Empidini, formado por cinco gêneros, dos quais três são exclusivamente neotropicais: *Macrostomus*, *Porphyrochroa* e *Opeatocerata*. *Lampremis* não é oficialmente conhecido para outras regiões biogeográficas além da Neotropical, mas neste estudo algumas espécies foram identificadas para a Região Oriental. Espécies Neotropicais de *Empis* aparecem como sendo o grupo-irmão dos outros quatro gêneros.

O clado formado pelos gêneros *Lampremis*, *Opeatocerata*, *Macrostomus* e *Porphyrochroa* tem 98% de suporte de bootstrap e 0.97 de probabilidade posterior (Fig. 8). Duas principais linhagens aparecem: *Lampremis* + *Opeatocerata*, (100; 0.98) e *Macrostomus* + *Porphyrochroa* (93; 0.97). Em todos os critérios de otimização utilizados (MP, ML e IB), das oito espécies de *Lampremis* incluídas (do Brasil, Costa Rica, Peru, Tailândia e Vietnã), duas saíram fora do clado (a do Peru e a da Tailândia) que inclui as outras seis espécies, mais as duas espécies de *Opeatocerata* (Fig. 8). *Lampremis* e *Opeatocerata* são claramente relacionados entre si, assim como *Macrostomus* e *Porphyrochroa*. Os dois últimos gêneros podem ser considerados monofiléticos, pelo alto número de espécies utilizadas e pelo alto suporte de ramos que cada um apresenta (*Macrostomus*: 93 e 0.97; *Porphyrochroa*: 100 e 0.96). Nas análises de máxima verossimilhança e inferência bayesiana (Figs. 3 e 4), *Porphyrochroa* sp. 24 do Peru é a única espécie do gênero que aparece fora do clado formado pelas outras espécies

(saindo na base do clado formado pelas espécies de *Macrostomus*, com 0.97 de probabilidade posterior). Entretanto, nas análises de parcimônia (Fig. 2), *Porphyrochroa* sp. 24 sai juntamente com as demais espécies do gênero. Esta espécie claramente parece ser um exemplar de *Porphyrochroa*, pela venação da asa e pelo padrão de cor do abdômen, contudo, por se tratar de uma fêmea, caracteres adicionais indispensáveis pra identificação do gênero não puderam ser investigados.

5. DISCUSSÃO TAXONÔMICA

Existem uns poucos trabalhos prévios sobre o relacionamento em Empidoidea para comparação com os resultados desta tese. Em tais estudos (Sinclair & Cumming, 2006 [Fig. 1] e Moulton & Wiegmann, 2007 [Fig. 9]), os quais se valeram de classificação fundamentada em caracteres morfológicos e moleculares, respectivamente, as inferências filogenéticas sobre a tribo Empidini foram baseadas em uma insuficiente quantidade de espécies (quatro espécies em quatro gêneros no primeiro e quatro espécies em três gêneros no segundo). Entretanto, o estudo baseado em dados morfológicos recuperou Empidini como parafilético, o que foi corroborado pelos nossos resultados. Alguns autores sugerem que um dos principais meios de avaliar a utilidade de um sistema de caracteres para filogenia é investigar se a análise filogenética recupera grupos que são fortemente apoiadas por outras fontes de dados (Kluge, 1989; Miyamoto & Cracraft, 1991; Friedlander *et al.* 1994), o que ocorreu aqui. A tribo Empidini, como atualmente classificada, vem sendo reconhecida como parafilética, mesmo que em um dos trabalhos previamente realizados para Empidoidea (Moulton & Wiegmann, 2007) esta tenha sido reconhecido como monofilética. Desde que esta pesquisa começou a ser realizada, em 2008, resultados preliminares sobre a parafilia da tribo Empidini e a monofilia de muitos gêneros foram apresentados em diversos congressos de nível internacional (Mendonça *et al.*, 2010a; 2010b; Winkler *et al.*, 2010).

Os suportes de ramos utilizados, bootstrap e probabilidade posterior, apresentaram valores muito similares. O valor de bootstrap ligado à monofilia de Empidinae (91), por exemplo, é muito similar à probabilidade posterior associada a esta relação (0.98). Os valores das probabilidades posteriores e de bootstrap associados a cada um dos gêneros, bem como aos relacionamentos existentes entre eles, também são bastante expressivos neste caso. Segundo Huelsenbeck e Ronquist (2005), o valor das probabilidades posteriores é a única medida de suporte que reconstrói corretamente um determinado clado, dado o conjunto de dados e com a premissa de que as análises tenham sido realizadas com os parâmetros adequados. Baixos valores de suporte para os clados também podem estar relacionados a eventos de rápida radiação dentro de linhagens (Whitfield & Kjer, 2008).

A seguir, os resultados obtidos para as 10 linhagens neotropicais da tribo Empidini são discutidos.

5.1. *Empidadelpha* Collin, 1928

Empidadelpha é um gênero com apenas três espécies descritas, uma do Chile e duas da Nova Zelândia (Tabela 1) (e ainda muitas outras não descritas, especialmente da Austrália, D. Bickel, comunicação pessoal). A espécie Neotropical de *Empidadelpha* usada (*Empidadelpha sobrina*, do Chile) apareceu na base do grupo *Sphicosa* (ver abaixo) como grupo-irmão de *Empis fulvicollis* (complexo *macrorrhyncha*) da Argentina (Fig. 5). Collin (1933), quando descreveu o gênero, separou-o de *Empis* pela venação, especialmente por ter uma veia subcostal mais curta e pelo formato em ‘S’ da veia que fecha a célula anal. Já que apenas uma espécie foi incluída, seria precipitado falar da monofilia de *Empidadelpha*, especialmente por não terem sido incluídas espécies da Região Australiana, para onde a espécie-tipo é conhecida (*Empidadelpha propria* Collin, Nova Zelândia).

5.2. *Sphicosa* Philippi, 1865

Sphicosa é um gênero formado por nove espécies descritas, para o Brasil e Chile, e outras tantas esperando descrição, muitas para Austrália, sendo a espécie-tipo do gênero, *Sphicosa nigra* Philippi, registrada para o Chile. No presente trabalho, foram incluídas três espécies, para a Austrália, Brasil e Chile. Durante o 7° Congresso Internacional de Dipterologia, na Costa Rica (2010), Daugeron e Winkler apresentaram pela primeira vez o ‘grupo Sphicosa’, que compreende os gêneros andinos *Sphicosa*, *Clinorhampha*, *Hystrichonotus*, *Empidadelpha* e algumas espécies neotropicais de *Empis* e *Rhamphomyia* (Fig. 5); o grupo Sphicosa também foi recuperado aqui. Uma das espécies de *Sphicosa* incluídas (a da Austrália) aparece no clado com as duas espécies do gênero *Hystrichonotus* (do Chile), mostrando que o gênero precisa ser redefinido. Por outro lado, já que o nome do táxon está atrelado ao clado com as

espécies andinas, o gênero poderia ser monofilético. *Clinorhampha* aparece como seu grupo-irmão, relacionamento este já proposto por Collin (1933), por serem os únicos gêneros de Empidini a apresentarem a probóscide horizontal. Todos os membros da tribo Empidini do Hemisfério Norte e dos trópicos não possuem posgonitos (Daugeron *et al.*, 2009). A ausência de posgonitos é geralmente considerada sinapomórfica dentro de Empidinae (Daugeron *et al.*, 2002; Sinclair & Cumming, 2006). Posgonitos estão presentes no grupo *Empis macrorrhyncha*, nos grupos IV e V propostos por Collin, nos gêneros *Clinorhampha*, *Empidadelpha*, *Sphicosa* e em algumas espécies de *Rhamphomyia*, enquanto que nos grupos II e VI de Collin e nas espécies remanescentes de *Rhamphomyia* o posgonito está ausente. Consequentemente, estes últimos grupos poderiam estar mais próximos das linhagens do norte, ou pelo menos com alguns membros destas linhagens (Daugeron *et al.*, 2002).

5.3. *Clinorhampha* Collin, 1933

Três espécies são reconhecidas no gênero *Clinorhampha*, todas descritas para o Chile (Collin, 1933). Entretanto, o gênero tem sido coletado também na Austrália, embora tais espécies ainda não tenham sido descritas. Usualmente, *Clinorhampha* era considerado relacionado com outros cinco gêneros neotropicais (*Bolrhamphomyia*, *Chilerhamphomyia*, *Macrostomus*, *Porphyrochroa* e *Rhamphomyia*) por compartilharem a veia R_{4+5} não-ramificada. Para Collin (1933), a proboscide horizontal apresentada por *Sphicosa* e *Clinorhampha* torna estes dois gêneros proximamente relacionados. A relação proposta por Collin (1933) foi verificada neste estudo, pois *Sphicosa* e *Clinorhampha* aparecem como grupos-irmãos. Além disso, nossos resultados mostram que *Clinorhampha* faz parte do grupo designado por Daugeron e Winkler (2010) como grupo *Sphicosa*, formado pelos gêneros Neotropicais temperados (andinos) da tribo, e portanto não é relacionado com nenhum dos gêneros citados acima com ocorrência na parte quente do neotrópico (Fig. 5). O grupo *Sphicosa* sai na base do cladograma (enquanto que *Macrostomus* e *Porphyrochroa*, por exemplo, são grupos apicais). As espécies usadas, uma da Austrália e duas da Região Andina (Argentina e Chile) estão

em um mesmo clado e com alto suporte (100; 0.98), evidenciando a provável monofilia do gênero.

5.4. *Hystrichonotus* Collin, 1933

O gênero Neotropical *Hystrichonotus* aparece na base da árvore como grupo-irmão da espécie de *Sphicosa* da Austrália (Fig. 5). Tem apenas uma espécie reconhecida, *Hystrichonotus revelator* Collin, 1933 e ninguém estudou novamente o gênero desde então. As duas espécies incluídas aparecem no mesmo ramo e estão bem suportadas (100; 0.99), o que pode indicar a monofilia do gênero; estas espécies incluídas foram comparadas com a espécie-tipo, depositada no Museu de História Natural de Londres (BMNH), e tudo indica tratarem-se de novas espécies (M. Mendonça, não publicado).

Hystrichonotus é o único gênero de Empidini com o laterotergito nu. Este caráter é particularmente importante, já que tem sido largamente usado para caracterizar as tribos de Empidinae; a presença de cerdas no laterotergito distingue a tribo Empidini da tribo Hilarini, que não possui cerdas no referido esclerito. Em outro caso, *Trichohilara*, um gênero de Hilarini, possui cerdas no laterotergito, mostrando que caracteres adicionais sempre devem ser usados para definir as tribos (Bickel, 1996). *Hystrichonotus* faz parte do grupo *Sphicosa* e é proximamente relacionado à espécie de *Sphicosa* da Austrália (Fig. 5).

5.5. *Lamprempis* Wheeler & Melander, 1901 e *Opeatocerata* Melander, 1928

Lamprempis tem 22 espécies descritas, 16 das quais foram descritas em 10 diferentes artigos entre 1861 e 1928 (para Bolívia, Colômbia, Cuba, Jamaica, México, e Peru) (Smith 1967). As outras seis espécies foram descritas por Smith (1962 e 1975) para o sul e centro-oeste do Brasil. Aqui foram incluídas seis espécies, para o Brasil, Costa Rica e Peru, além de duas fêmeas, do Vietnã e da Tailândia, as quais foram tentativamente identificadas como sendo *Lamprempis*. Para nossa surpresa, a espécie

do Vietnã aparece dentro do clado com as espécies de *Lamprempis* neotropicais (Fig. 8); entretanto, a espécie da Tailândia aparece mais proximamente relacionada com as espécies de *Empis* da América do Norte (Fig. 7). Outra espécie (*Lamprempis* sp. 5, do Peru) do mesmo modo foi encontrada no clado de uma outra linhagem de *Empis* (Fig. 8). O achado de *Lamprempis* com sendo polifilético sugere que necessita de uma clarificação mais profunda e é possível que algumas espécies do gênero formem grupos monofiléticos com membros de outros gêneros. A espécie-tipo de *Lamprempis*, *Lamprempis chichimeca* Wheeler & Melander, é registrada para a Bolívia e o México. Embora muitas das espécies incluídas devam ser novas, tentou-se proceder com a identificação dos terminais a nível específico, mas mesmo com a chave de identificação proposta por Smith (1967), os caracteres diagnósticos para a maioria das espécies não está ilustrado e a identificação se tornou restrita.

O gênero *Opeatocerata* aparece como monofilético (99; 0.98) e foi encontrado como uma linhagem de *Lamprempis* (100; 0.98). A afinidade dos dois gêneros tem sido sugerida na literatura (Bezzi, 1909; Melander, 1928), mas os caracteres morfológicos que são compartilhados por *Lamprempis* e *Opeatocerata* devem ainda ser encontrados e revisados. As espécies de *Lamprempis* apresentam antena inserida acima do meio da cabeça, com o terceiro segmento antenal mais longo do que o estilo, ângulo anal da asa desenvolvido com uma profunda incisão axilar, primeira veia terminando além do meio da asa e brilho metálico no abdômen (Bezzi, 1909; Smith, 1962, 1967, 1975). Em todas as análises realizadas, as duas espécies de *Opeatocerata* incluídas (uma da Amazônia brasileira e a outra da Costa Rica), e três espécies de *Lamprempis* (duas também da Amazônia brasileira e uma do Vietnã – Região Oriental), tiveram um suporte de bootstrap de 100% e 0.99 de probabilidade posterior. O clado é grupo-irmão de outras três espécies de *Lamprempis* do Peru e da Costa Rica (Fig. 8).

Opeatocerata foi descrito por Melander (1928) para abrigar a espécie *Empis rubida* Wheeler & Melander do México. Smith (1989) descreveu as outras três espécies para o gênero e Camara e Rafael (2011) descreveram outras duas. Apesar do pequeno número de espécies, há dezenas para serem descritas, especialmente as procedentes da Amazônia Brasileira e América Central (Josenir Camara, comunicação pessoal). Nós sugerimos que *Lamprempis* não continue sendo tratado como uma linhagem

natural e sua revisão taxonômica seria o melhor caminho para uma acurada diagnose do gênero. Além disso, mais atenção deve ser dada aos limites e diagnoses das espécies e evidentemente que caracteres morfológicos compartilhados por *Lamprempis* e *Opeatocerata* devem ser encontrados para que se descubra quais características fenotípicas são expressadas pelos genes estudados que tornam ambos os gêneros proximamente relacionados. Por outro lado, para que os relacionamentos apresentados sejam mais claramente testados, mais espécies deveriam ser incluídas em estudos subsequentes, levando em consideração que não foram incluídas espécies para a localidade-tipo de *Lamprempis* (Bolívia e México).

5.6. *Macrostomus* Wiedemann, 1817 e *Porphyrochroa* Melander, 1928

Ambos os gêneros *Macrostomus* e *Porphyrochroa* aparecem em nossas análises como linhagens monofiléticas, sendo este o primeiro estudo evidenciando tal relacionamento. *Macrostomus* é um gênero diverso, com 22 espécies descritas restritas à Amazônia (Rafael & Cumming, 2009; 2010), para onde a espécie-tipo é conhecida (*Macrostomus ferrugineus* (Fabricius), conhecida para o Brasil e Guiana). Já *Porphyrochroa*, com 54 espécies reconhecidas, ocorre em toda a Região Neotropical, com exceção do Chile e tem a espécie-tipo, *Porphyrochroa palliata* (Coquillett), descrita para o México. Os caracteres morfológicos retratados por Rafael e Cumming (2004) para separar as duas linhagens mostraram-se úteis para diagnosticar ambos os gêneros (*Porphyrochroa* com abdômen azul-esverdeado metálico / *Macrostomus* sem este padrão; *Porphyrochroa* usualmente com a célula dm curta / *Macrostomus* com célula dm alongada; lobo anal da asa usualmente bem desenvolvido em *Porphyrochroa* / em *Macrostomus* fracamente desenvolvido; e tergito 7 do macho com protuberância posteroventral em *Porphyrochroa* / *Macrostomus* sem este caráter).

Foram incluídas nas análises 24 espécies de *Porphyrochroa* e 10 espécies de *Macrostomus* (Tabela 2; Fig. 8) obtidas de uma variedade de localidades ao longo da Região Neotropical (Brasil, Costa Rica, Equador, Guiana Francesa e Peru), entretanto, observou-se que a maioria das espécies da América Central (ou talvez todas elas) são seguramente espécies novas, o que indica uma necessária revisão taxonômica do

grupo para esta região. *Macrostomus* foi revisado por Rafael e Cumming (2004, 2006, 2009, 2010), mas apenas espécies sulamericanas foram incluídas. Através de coletas realizadas na América Central (Costa Rica), observou-se uma grande biodiversidade nesta região. *Porphyrochroa* da Amazônia, por outro lado, foi revisado por Mendonça *et al.* (2007, 2008) e 20 espécies novas foram descritas, mas tendo em vista a grande biodiversidade de tal bioma, é certo que muitas espécies ainda permanecem não descritas.

Apesar de os caracteres morfológicos conhecidos para separar os gêneros serem úteis, a identificação de umas poucas espécies não foi possível em um exame inicial, já que estas possuem caracteres de ambos os gêneros, como é o caso de *Porphyrochroa* sp. 9 e *Porphyrochroa* sp. 20, que inicialmente foram identificadas como sendo espécies de *Macrostomus*, principalmente pela célula dm alongada; com uma cuidadosa observação de todos os outros caracteres, entretanto, tais espécies se acomodaram no gênero *Porphyrochroa*. Em um outro caso, quando observados apenas caracteres da morfologia externa, *Porphyrochroa* sp. 24 é considerada uma espécie de *Porphyrochroa* por conta do abdômen azul metálico e da célula dm curta e truncada. Entretanto, tal espécie sai no clado das espécies de *Macrostomus* nas análises de máxima verossimilhança (Fig. 3) e inferência bayesiana (Fig. 4). Já nas análises de parcimônia, *Porphyrochroa* sp. 24 aparece na base do ramo formado pelas espécies de *Porphyrochroa* (Fig. 2); como trata-se de um exemplar fêmea, os outros caracteres citados acima não puderam ser utilizados para confirmar o seu gênero.

5.7. *Empis* Linnaeus, 1758 e *Rhamphomyia* Meigen, 1822

Empis e *Rhamphomyia* tem sido frequentemente mostrados como sendo linhagens polifiléticas (Daugeron *et al.*, 2009; Daugeron, in prep.; Winkler *et al.* in prep.) e no corrente estudo não foi diferente. Foi incluído um número expressivo de espécies, de diferentes grupos e subgêneros, para quase todas as regiões biogeográficas (*Empis* não foi representado apenas para a Região Oriental, enquanto que *Rhamphomyia* não foi representado para a Região Australiana), com o objetivo de indentificar possíveis grupos de espécies, bem como a localização das espécies neotropicais. Tanto um

gênero quanto outro possuem muitas espécies descritas sendo a maioria para a Região Paleártica (*Empis*: 586, sendo 75 neotropicais; *Rhamphomyia*: 495, sendo 15 neotropicais) para onde ambas as espécies-tipo são registradas (*Empis pennipes* L. e *Rhamphomyia sulcata* Meigen), além de muitos subgêneros (ver tabela 1 para o número de espécies em cada região). Foram incluídas 56 espécies de *Empis* acomodadas em oito diferentes subgêneros (da Argentina, China, Costa Rica, EUA, França, Japão, Coreia e Tailândia); para *Rhamphomyia*, 33 espécies em 14 subgêneros foram incluídos (provenientes da Andorra, Argentina, Austrália, Bolívia, Brasil, Chile, China, Congo, Costa Rica, EUA, Inglaterra, França, Guiana Francesa, Coreia, Madagascar, Mongólia, Peru, Rússia e Zâmbia). Entretanto, por conta do grande número de espécies descritas, uma resolução filogenética a nível mundial destes gêneros vai além do escopo do presente estudo e requererá um número muito maior de espécies, principalmente das regiões Neártica e Paleártica. Tal estudo está em progresso e deve ser publicado nos próximos meses (Winkler *et al.* in prep., Daugeron, in prep.).

O que pode ser visto é que as linhagens neotropicais de *Empis* e *Rhamphomyia* aparecem ao longo do filograma, da base ao ápice, entre todas as linhagens da tribo Empidini, o que evidencia que alguns caracteres usados para separá-los não correspondem à sua história filogenética. A veia radial não-bifurcada, por exemplo, como vista nas espécies de *Rhamphomyia*, é considerada um caráter homoplástico e muitas espécies com a veia R_{4+5} simples (como em *Rhamphomyia*) já foram transferidas para *Empis* (ver Daugeron & Grootaert, 2003), o qual é identificado como tendo a R_{4+5} bifurcada. Como a espécie-tipo de *Empis* foi incluída e aparece no clado das espécies paleárticas do gênero, acredita-se que *Empis s. st.* seja restrito para esta região. Muitos grupos de espécies de *Empis* e *Rhamphomyia* podem ser tratados como linhagens naturais e as árvores filogenéticas apresentadas oferecem uma excelente base para futuros estudos taxonômicos que objetivam resolver e delimitar os diferentes grupos de espécies em ambos os gêneros.

6. IMPLICAÇÕES BIOGEOGRÁFICAS

Os aspectos biológicos de um grupo podem ser ferramentas importantes e são frequentemente usados para a compreensão da sua história biogeográfica. Para Empididae, entretanto, dentre as cerca de quatro mil espécies descritas, existem dados da biologia de estágios imaturos de aproximadamente 50 espécies (Knutson & Flint, 1971). Em Empidinae, a maioria das informações disponíveis estão relacionadas a três grandes gêneros: *Hilara*, *Empis* e *Rhamphomyia*.

Os resultados obtidos nas análises cladísticas realizadas tornaram-se importantes ferramentas para a compreensão dos aspectos biogeográficos e corroboraram as recentes hipóteses de relacionamentos já identificadas entre os componentes da América do Sul (Matile, 1990; Amorim & Pires, 1996; Nihei & Carvalho, 2007; Löwenberg-Neto & Carvalho, 2009). Além disso, os resultados apresentados demonstraram o clássico relacionamento entre os grupos da América do Sul e da Austrália temperada, o mesmo já conhecido para outros relacionamentos transantárticos (por exemplo, Brundin, 1966; Amorim & Tozoni, 199).

O primeiro clado de Empidini observado, com 18 espécies (Fig. 5), inclui duas espécies australianas que aparecem como grupo-irmão em dois diferentes clados do grande grupo Andino formado por 15 espécies (e uma espécie do Brasil, por possível dispersão). O segundo grupo de Empidini (Fig. 6) inclui um pequeno grupo Andino de quatro espécies que aparece como grupo-irmão do próximo clado formado por todos os outros Empidini (africanos, neárticos, neotropicais, orientais e paleárticos). Esta topografia é normalmente interpretada como evidência de que as linhagens irmãs presentes na América do Sul e na Austrália surgiram entre o Paleoceno (65 Ma) e o fim do Eoceno (35 Ma), seguido da separação da Austrália e Antártica (ver Exon *et al.*, 2001; McLoughlin, 2001 para o tempo de separação da Gondwana e Brundin, 1966; Matile, 1990; Sanmartín e Ronquist, 2004 para exemplos de relacionamentos transantárticos).

Barreiras potenciais, como o desenvolvimento dos mares epicontinentais antárticos, a cadeia transantártica e o mar de Magalhães (Riccardi, 1987; Zinsmeister, 1987; Matile, 1990; Webb, 1990), poderiam ter causado eventos de especiação,

independentemente da separação dos maiores blocos gonduânicos. Tais barreiras poderiam ter contribuído para a origem dos dois principais clados formado pelos Empidini basais citados acima, especialmente do Cretáceo superior ao Cenozóico inferior (85-35 Ma).

Durante a quebra da Gondwana, a separação da Nova Zelândia e Antártica ocorreu durante o Cretáceo superior (85 Ma), antes da separação da Austrália e Antártica (McLoughlin, 2001). Neste caso, mesmo que não tenham sido usadas espécies neozelandicas, mas sabendo que a tribo Empidini possui quatro espécies em três gêneros com ocorrência na Nova Zelândia (*Empidadelpha propria* Collin, *Empidadelpha torrentalis* Miller, *Empis probata* Collin e *Rhamphomyia politella* Malloch; Smith, 1989), o ancestral comum do grupo poderia ser mais antigo do que o Cretáceo superior.

7. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados apresentados, pode-se concluir que a subfamília Empidinae é um grupo natural, mostrada como monofilética em todas os critérios de otimização testados, apresentando alto suporte. As linhagens neotropicais da tribo Empidini aparecem em vários ramos ao longo de toda a subfamília, a qual está dividida em dois ramos bem distintos: O basal, formado por espécies andinas e australianas dos gêneros *Clinorhampha*, *Empidadelphina*, *Hystichonotus* e *Sphicosa*, juntamente com algumas espécies neotropicais de *Empis* e *Rhamphomyia*; e o apical, formado pelas espécies Laurásicas de *Empis* e *Rhamphomyia*, as demais espécies neotropicais de *Empis*, e os demais gêneros neotropicais (*Lamprempis*, *Opeatocerata*, *Macrostomus* e *Porphyrochroa*). O ramo basal de Empidini, tratado como grupo *Sphicosa* poderia ser realocado em outra tribo. Neste caso a tribo Empidini *sensu stricto* estaria suportada por 98% de valor de bootstrap e 0.98 de probabilidade posterior, e poderia ser considerada monofilética.

As espécies Neárticas e Paleárticas dos gêneros *Empis* e *Rhamphomyia* formam uma linhagem que aparece no segundo ramo de Empidini citado acima. Ambos os gêneros necessitam de uma revisão taxonômica, pois um número considerável de espécies tem sido descritas ao longo dos anos, mas a filogenia mostra que muitas linhagens distintas dentro de cada gênero são reconhecidas. *Empis* e *Rhamphomyia* são polifiléticos e provavelmente as espécies do Hemisfério Sul serão futuramente transferidas para outros gêneros, tornando-os restritos ao Hemisfério Norte, para onde ambas as espécies-tipo são registradas.

A grande maioria dos clados apresentou alto suporte de ramos e as linhagens de Empidini que poderiam ser consideradas monofiléticas são: *Hystichonotus*, *Clinorhampha*, *Macrostomus*, *Opeatocerata* e *Porphyrochroa*. Por outro lado, *Lamprempis*, mostrado pela primeira vez com ocorrência fora da Região Neotropical, certamente forma um grupo monofilético, mas um estudo incluindo as espécies de *Opeatocerata* seria importante para a identificação dos caracteres que unem os dois gêneros e para que *Lamprempis* seja melhor conhecido.

O relacionamento entre as regiões Neotropical-Andina e Australiana-Neozelândica pôde ser confirmado através dos resultados apresentados, o que corrobora estudos prévios realizados.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amorim, D. de S.; Tozoni, S.H.S. 1994. Phylogenetic and biogeographic analysis of the Anisopodoidea (Diptera, Bibionomorpha), with an area cladogram for intercontinental relationships. *Revista Brasileira de Entomologia*. 38, 517-543.
- Amorim, D. de S.; Pires, M.R.S. 1996. Neotropical biogeography and a method for maximum biodiversity estimation. *Biodiversity in Brasil, a First Approach* (Ed. By C.E.M. Bicudo and N.A. Menezes), pp. 183-219. CNPq, São Paulo.
- Bernasconi, M.V.; Valsangiacomo, C.; Piffaretti, J.-C.; Ward, P.I. 2000. Phylogenetic relationships among Muscoidea (Diptera: Calyptratae) based on mitochondrial DNA sequences. *Insect Molecular and Biology*. 9, 67-74.
- Bertone, M.A.; Courtney, G.W.; Wiegmann, B.M. 2008. Phylogenetics and temporal diversification of the earliest true flies (Insecta: Diptera) based on multiple nuclear genes. *Systematic Entomology*. 33, 668-687.
- Bezzi, M. 1909. Beiträge zur Kenntniss der südamerikanischen Dipteren-Fauna auf Grund der Sammlerergebnisse einer Reise in Chile, Peru und Bolivia, ausgeführt in den Jahren 1902-1904 von W. Schnuse. Fam. Empididae. *Nova Acta Academiae Caesareae Leopoldino-Carolinae Germanicae Naturae Curiosorum*. 91, 299-406.
- Bickel, D.J. 1996. *Thinempis*, a new genus from Australia and New Zealand (Diptera: Empididae), with notes on the tribal classification of the Empidinae. *Systematic Entomology*. 21, 115-128.
- Brundin, L. 1966. Transantarctic relationships and their significance as evidenced by midges. *Kungliga Svenska Vetenskapsakademiens*. 11, 1-472.
- Camara, J.; Rafael, J.A. 2011. Two new species of *Opeatocerata* Melander (Diptera, Empididae, Empidinae) from the Brazilian Amazon Basin. *Zootaxa*. 3026: 37-45.
- Caterino, M.S.; Cho, S.; Sperling, F.A.H. 2000. The current state of insect molecular systematics: a thriving Tower of Babel. *Annual Review of Entomology*. 45, 1-54.
- Chvála, M. 1983. The Empidoidea (Diptera) of Fennoscandia and Denmark. II. General part. The families Hybotidae, Atelestidae, and Microsphoridae. *Fauna Entomologica Scandinavica*. 12, 1-279.
- Cognato, A.I.; Vogler, A.P. 2001. Exploring data interaction and nucleotide alignment in a multiple gene analysis of *Ips* (Coleoptera: Scolytinae). *Systematic Biology*. 50, 758-780.
- Collin, J.E. 1933. Empididae. *Diptera of Patagonia and South Chile*. 4, 1-334.
- Collins, K.P.; Wiegmann, B.M. 2002. Phylogenetic relationships and placement of the Empidoidea (Diptera: Brachycera) based on 28S rDNA and EF-1 α sequences. *Insect Systematics and Evolution*. 33, 421-444.
- Cumming, J.M. 1989. Book review of Chvála, M. 1983. The Empidoidea (Diptera) of Fennoscandia and Denmark. II. General Part. The families Hybotidae, Atelestidae, and Microsphoridae. *Fauna Entomologica Scandinavica*, V. 12. The Canadian Field-Naturalist. 103, 620.
- Cumming, J.M. 1994. Sexual selection and the evolution of dance fly mating systems (Diptera: Empididae; Empidinae). *The Canadian Entomologist*. 126, 907-920.

- Cumming, J.M.; Sinclair, B.J.; Wood, D.M. 1995. Homology and phylogenetic implications of male genitalia in Diptera – Eremoneura. *Fauna Entomologica Scandinavica*. 26, 120–151.
- Danforth, B. N.; Lin, C.P.; Fang, J. 2005. How do insect nuclear ribosomal genes compare to protein- coding genes in phylogenetic utility and nucleotide substitution patterns? *Systematic Entomology*. 30, 549–562.
- Daugeron, C; Grootaert, P. 2003. Assessment of monophyly of species-groups within Afrotropical Empidini (Diptera: Empididae: Empidinae), with a cladistic analysis of the *Empis setitarsus*-group. *Systematic Entomology*. 28, 339-360.
- Daugeron, C.; Winkler, I. 2010. An exemplar approach of the morphological phylogeny of the subfamily Empidinae. *Seventh International Congress of Dipterology*, Abstract volume, p. 66. Ramada-Herradura International Conference Center, San José, Costa Rica.
- Daugeron, C.; Grootaert, P.; Shamshev, I. 2002. Phylogenetic relationships within the Empidinae (Empididae). *Fifth International Congress of Dipterology*, Abstract volume, p. 47. University of Queensland, Brisbane.
- Daugeron, C; D'haese, C.A.; Plant, A.R. 2009. Phylogenetic systematics of the gondwanan *Empis macrorrhyncha* group (Diptera, Empididae, Empidinae). *Systematic Entomology*. 34, 635–648.
- Exon, N.F.; Kennett, J.P.; Malone, M.J. 2001. *Proceedings of the Ocean Drilling Program, Initial Reports Volume 189*. Available at http://www.odp.tamu.edu/publications/189_IR/189ir.htm.
- Farrell, B.D. 2001. Evolutionary assembly of the milkweed fauna: Cytochrome oxidase I and the age of Tetraopes beetles. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 18, 467–478.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*. 39, 783–791.
- Folmer, O.; Black, M.; Hoeh, W.; Lutz, R.; Vrijenhoek, R. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*. 3, 294-299.
- Friedlander, T.P.; Regier, J.C.; Mitter, C. 1994. Phylogenetic information content of five nuclear gene sequences in animals: initial assessment of character sets from concordance and divergence studies. *Systematic Biology*. 43, 511-525.
- Gene Codes Corporation. 2009. Sequencher® version 4.9 sequence analysis software, Ann Arbor, MI USA <http://www.genecodes.com>.
- Hasegawa, M.; Kishini K.; Yano, T. 1985. Dating the human-ape splitting by a molecular clock of mitochondrial DNA. *Journal of Molecular Evolution*. 22,160–174.
- Huelsenbeck, J.P.; Ronquist, F. 2001. MrBayes: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics*. 17, 754–755.
- Huelsenbeck, J.P.; Ronquist, F. 2005. Bayesian analysis of molecular evolution using MrBayes. p. 1–53.
- Kluge, A.G. 1989. A concern for evidence and a phylogenetic hypothesis of relationships among *Epicrates* (Boidae: Serpentes). *Systematic Zoology*. 38, 7–25.
- Knutson, L.V.; Flint, O.S. 1971. Pupae of Empididae in pupal cocoons of Rhyacophilidae and Glossosomatidae (Diptera, Trichoptera). *Proceedings of the Entomological Society of Washington*. 73, 314–320.
- Lin, C.P.; Danforth, B.N. 2004. How do insect nuclear and mitochondrial gene

- substitution patterns differ? Insights from Bayesian analysis of combined datasets. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 30, 686–702.
- Löwenberg-Neto, P., de Carvalho, C.J.B., 2009. Areas of endemism and spatial diversification of the Muscidae (Insecta: Diptera) in the Andean and Neotropical regions. *Journal of Biogeography*. 36, 1750–1759.
- Lunt, D.H., Zhang, D.-X., Szymura, J.M., Hewitt, G.M. 1996. The insect cytochrome oxidase I gene: evolutionary patterns and conserved primers for phylogenetic studies. *Insect Molecular Biology*. 5, 153–165.
- Matile, L. 1990. Recherches sur la systématique et l'évolution des Keroplatidae (Diptera, Mycetophilodea). *Mémoires Du Muséum National d'Histoire Naturelle*. 148, 1-682
- McLoughlin, S. 2001. The break-up history of Gondwana and its impact on pre-Cenozoic floristic provincialism. *Australian Journal of Botany*. 49, 271–300.
- Melander, A.L. 1928. Diptera, Fam. Empididae. In Wytsman, P. (Ed.), *Genera Insectorum*. 185 (1927), 1–434.
- Mendonça, M.N. 2010. New species of *Porphyrochroa* Melander (Diptera: Empididae) from Paraná, Brazil and key to Brazilian species from southern and south-eastern Brazil. *Journal of Natural History*. 44, 615–624.
- Mendonça, M.N.; Rafael J.A.; Ale-Rocha, R. 2007. Descrição de três espécies novas de *Porphyrochroa* Melander (Diptera, Empididae) da Bacia Amazônica, Brasil. *Revista Brasileira de Entomologia*. 51, 352–357.
- Mendonça, M.N.; Rafael J.A.; Ale-Rocha, R. 2008. Revision of the Brazilian Amazon Basin species of *Porphyrochroa* Melander (Diptera: Empididae). *Zootaxa*. 1859, 1–39.
- Mendonça, M.N.; Wiegmann, B.M.; Winkler, I.S.; Carvalho, C.J.B. de 2010a. Phylogenetic relationships of Neotropical Empidinae lineages with regard to the entire subfamily. *Seventh International Congress of Dipterology*, Abstract volume, p. 162. Ramada-Herradura International Conference Center, San José, Costa Rica.
- Mendonça, M.N.; Wiegmann, B.M.; Winkler, I.S. 2010b. Phylogenetic relationships of Neotropical Empidinae lineages with regard to the entire subfamily. *The 58th Annual Meeting of the Entomological Society of America*, Abstract (<http://esa.confex.com/esa/2010/webprogram/Paper52739.html>). Town and Country Convention Center, San Diego, CA.
- Miyamoto, M.M.; Cracraft, J. 1991. Phylogenetic inference, DNA sequence analysis, and the future of molecular systematics. In: Miyamoto M.M. and Cracraft J. (eds), *Phylogenetic Analysis of DNA Sequences*. Oxford University Press, New York, pp. 3–17.
- Mooers, A.Ø.; Holmes, E.C. 2000. The evolution of base composition and phylogenetic inference. *Trends in Ecology and Evolution*. 15, 356–365.
- Morrone, J.J., 1994. Distributional patterns of species of Rhytirrhini (Coleoptera: Curculionidae) and the historical relationships of the Andean provinces. *Global Ecology and Biogeography Letters*. 4, 188-194.
- Morrone, J.J., 2001. Biogeografía de América Latina y el Caribe. Zaragoza, *Manuales y Tesis SEA*, nro. 3.
- Moulton, J.K.; Wiegmann, B.M. 2004. Evolution and phylogenetic utility of CAD (rudimentary) among Mesozoic-aged eremoneuran Diptera (Insecta). *Molecular Phylogenetic and Evolution*. 31, 363–378.

- Moulton, J.K.; Wiegmann, B.M. 2007. The phylogenetic relationships of flies in the superfamily Empidoidea (Insecta: Diptera). *Molecular Phylogenetic and Evolution*. 43, 701–713.
- Nihei, S.S. & de Carvalho, C.J.B. 2007. Systematics and biogeography of *Polietina* Schnabl & Dziedzicki (Diptera, Muscidae): Neotropical area relationships and Amazonia as a composite area. *Systematic Entomology*. 32, 260–275.
- Page, D.M.; Holmes, E.C. 2006. Molecular Evolution: A Phylogenetic Approach. Blackwell: Malden, MA, USA.
- Plant, A.R. 1995. A new genus of Empidinae (Diptera: Empididae) from New Zealand. *New Zealand Entomologist*, Vol. 18.
- Posada, D. 2008. jModelTest: Phylogenetic Model Averaging. *Molecular Biology and Evolution*. 25, 1253–1256.
- Posada, D., Buckley, T.R. 2004. Model selection and model averaging in phylogenetics: advantages of Akaike information criterion and Bayesian approaches over likelihood ratio tests. *Systematic Biology*. 53, 793–808.
- Rafael, J.A. 2001. Redescritção de duas espécies neotropicais de Empididae (Diptera) descritas por Curran e revalidação do gênero *Porphyrochroa*. *Iheringia, Série Zoologia*. 90, 127–132.
- Rafael, J.A. 2010. Revisão das espécies neotropicais de Empididae (Diptera) descritas por Mario Bezzi. VI. As espécies descritas em *Rhamphomyia* Meigen e as descrições de *Chilerhamphomyia* gen. nov. e *Bolrhamphomyia* gen. nov. *Revista Brasileira de Entomologia*. 54, 545–559.
- Rafael, J.A.; Cumming, J.M. 1998. Monophyly and recognition of *Macrostomus* Wiedemann and *Porphyrochroa* Melander (Empididae, Empidinae). *Fourth International Congress of Dipterology*, Oxford, UK, 179 pp.
- Rafael, J.A.; Ale-Rocha, R. 2002. New species of *Porphyrochroa* Melander from Dominican Republic (Diptera, Empididae, Empidinae). *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, Plön. 37, 241–248.
- Rafael, J.A.; Cumming, J.M. 2004. The Neotropical genera *Macrostomus* Wiedemann and *Porphyrochroa* Melander (Diptera, Empididae, Empidinae). *Revista Brasileira de Zoologia*. 21, 439–448.
- Rafael, J.A.; Cumming, J.M. 2006. New species of *Macrostomus* Wiedemann (Diptera, Empididae) from Colombia, Ecuador and Peru. *Zootaxa*. 1136, 49–64.
- Rafael, J.A.; Cumming, J.M. 2009. Revision of the genus *Macrostomus* Wiedemann (Diptera: Empididae: Empidinae). I. The ferrugineus species-group. *Zootaxa*. 2064, 39–56.
- Rafael, J.A.; Cumming, J.M. 2010. Revision of the genus *Macrostomus* Wiedemann (Diptera: Empididae: Empidinae). II. The *pictipennis* species-group. *Acta Amazônica*. 40, 613–624.
- Rambaut, A. 2002. Sequence alignment editor, Version 2.0a11. Available as shareware from <<http://evolve.zoo.ox.ac.uk/index.html>>.
- Rambaut, A. 2009. Tree Figure Drawing Tool, Version 1.3.1. *Institute of Evolutionary Biology*, University of Edinburgh, Reino Unido.
- Reed, R.D.; Sperling, F.A.H. 1999. Interaction of process partitions in phylogenetic analysis: An example from the swallowtail butterfly genus *Papilio*. *Molecular Biology and Evolution*. 16, 286–297.

- Riccardi, A.C. 1987. Cretaceous palaeogeography of southern South America. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*. 59, 169–195.
- Rodríguez, F.; Oliver, J.L.; Marín, A.; Medina, J.R. 1990. The general stochastic model of nucleotide substitution. *Journal of Theoretical Biology*. 142, 485–501.
- Rosen, D.E. 1975. A vicariance model of Caribbean biogeography. *Systematic Zoology*. 24, 431–466.
- Sanmartín, I.; Ronquist, F. 2004. Southern hemisphere biogeography inferred by event-based models: plant versus animal patterns. *Systematic Biology*. 53, 216–243.
- Scheffer, S.J.; Wiegmann, B.M. 2000. Molecular phylogenetics of the holly leafminers (Diptera: Agromyzidae: *Phytomyza*): species limits, speciation, and dietary specialization. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 17, 244–255.
- Schiner, J.R. 1862. [Heft 8 (part)]. In *Fauna Austriaca. Die Fliegen (Diptera). Theil 1. Carl Gerolds Sohn, Wien*, pp. 657–674.
- Simon, C.; Frati, F.; Beckenbach, A.; Crespi, B.; Liu, H.; Flook, P. 1994. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Annals of the Entomological Society of America*. 87, 651–701.
- Sinclair, B.J. 1995. Generic revision of the Clinocerinae (Empididae), and description and phylogenetic relationships of the Trichopezinae, new status (Diptera: Empidoidea). *The Canadian Entomologist*. 127, 665–752.
- Sinclair, B.J.; Cumming, J.M. 2006. The morphology, higher-level phylogeny and classification of the Empidoidea. *Zootaxa*. 1180, 1–172.
- Smith, K.G.V. 1962. Studies on the Brazilian Empididae (Diptera). *Transactions of the Royal Entomological Society of London*. 114, 195–266.
- Smith, K.G.V. 1967. Family Empididae (Empidae, Hybotidae) [Part] 39. In: *A Catalogue of the Diptera of the Americas south of the United States*. São Paulo, Departamento de Zoologia, 67 pp.
- Smith, K.G.V. 1975. Family Empididae. In: Delfinado, M. D. & D. E. Hardy (eds.), *A catalog of the Diptera of the Oriental region*, 2. The University Press of Hawaii. pp. 185–211.
- Smith, K.G.V. 1989. Family Empididae. In Evenhuis, N.L. (Ed.), *Catalog of the Diptera of the Australasian and Oceanian Regions*. British Museum (Natural History), pp. 431–442.
- Sullivan, J., Joyce, P. 2005. Model selection in phylogenetics. *Annual Review of Ecology and Evolution Systematics*. 36, 445–466.
- Swofford, D.L. 2002. PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (* and Other Methods). Version 4. *Sinauer Associates*, Sunderland, Massachusetts.
- Trautwein, M.D.; Wiegmann, B.M.; Yeates, D.K. 2010. A multigene phylogeny of the fly superfamily Asiloidea (Insecta): Taxon sampling and additional genes reveal the sister-group to all higher flies (Cyclorrhapha). *Molecular Phylogenetic and Evolution*. 56, 918–930.
- Webb, P-N. 1990. The Cenozoic history of Antarctica and its global impact. *Antarctic Science*. 2, 3–21.
- Whitfield, J.B.; Kjer, K.M. 2008. Ancient rapid radiations of insects: challenges for phylogenetic analysis. *Annual Review of Entomology*. 53, 449–472.
- Wiegmann, B.M.; Trautwein, M.D.; Winkler, I.S.; Barr, N.B.; Kim, J.W.; Lambkin, C.; Bertone, M.A.; Cassel, B.K.; Bayless, K.M.; Heimberg, A.M.; Wheeler, B.M.;

- Peterson, K.J.; Pape, T.; Sinclair, B.J.; Skevington, J.H.; Blagoderov, V.; Caravas, J.; Kutty, S.N.; Schmidt-Ott, U.; Kampmeier, G.E.; Thompson, F.C.; Grimaldi, D.A.; Beckenbach, A.T.; Courtney, G.W.; Friedrich, M.; Meier, R.; Yeates, D.K. 2011. Episodic radiations in the fly tree of life. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, PNAS.
- Winkler, I.S.; Daugeron, C.; Wiegmann, B.M.; Turner, S.P.; Mendonca, M.N.; Cumming, J.M.; Sinclair, B.J.; Brooks, S.E.; Collins, K.C. 2010. Molecular Phylogeny of the subfamily Empidinae. *Seventh International Congress of Dipterology*, Abstract volume, p. 272. Ramada-Herradura International Conference Center, San José, Costa Rica.
- Woodley, N.E. 1989. Phylogeny and classification of the “Orthorrhaphous” Brachycera [Chapter] 15. In McAlpine, J.F. (Ed.), *Manual of Nearctic Diptera*, Volume 3: 1371–1395. *Agriculture Canada Monograph*. 32, 1371–1395.
- Yang, Z.; Goldman, N.; Friday, A. 1994. Comparison of models for nucleotide substitution used in maximum likelihood phylogenetic estimation. *Molecular Biology and Evolution*. 11, 316–324.
- Yang, D.; K. Zhang; Yao, G.; Zhang, J.. 2007. World Catalog of Empididae (Insecta: Diptera). Beijing, *China Agricultural University Press*, 599 p.
- Yeates, D.K.; Wiegmann, B.M.; Courtney, G.W.; Meier, R.; Lambkin, C.; Pape, T. 2007. Phylogeny and systematics of Diptera: Two decades of progress and prospects. *Zootaxa*. 1668, 565–590.
- Zwickl, D.J. 2006. Genetic algorithm approaches for the phylogenetic analysis of large biological sequence datasets under the maximum likelihood criterion. *PhD Dissertation*, The University of Texas at Austin.
- Zinsmeister, W.J. 1987. Cretaceous palaeogeography of Antarctica. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*. 59, 197–206.

Tabela 1: Número de espécies em cada gênero da tribo Empidini para cada região biogeográfica (Yang *et al.*, 2007) e número total de espécies de cada gênero incluídas.

Gênero	Região						Total	Incluídos
	Afro-tropical	Australiana	Neártica	Neotropical e Andina	Oriental	Paleártica		
<i>Bolrhamphomyia</i>				1			1	0
<i>Chilerhamphomyia</i>				1			1	0
<i>Clinorhampha</i>				3			3	3
<i>Edenophorus</i>	7						7	0
<i>Empidadelphus</i>		2		1			3	1
<i>Empis</i>	76	26	89	75	89	241	596	56
<i>Hystichonotus</i>				1			1	2
<i>Lamprempis</i>				22			22	8
<i>Macrostomus</i>				19			19	10
<i>Opeatocerata</i>				6			6	2
<i>Porphyrochroa</i>				54			54	24
<i>Rhamphella</i>		1					1	0
<i>Rhamphomyia</i>		4	192	15	15	269	495	33
<i>Sphicosa</i>				9			9	3
Total	83	33	281	207	104	510	1218	142

Tabela 2: Táxon, local de depósito do *voucher*, código do *voucher*, país de procedência e região biogeográfica correspondente aos 160 terminais utilizados (Empidini e grupos-externos). Abreviações: CNC: Canadian National Collection; DZUP: Coleção Pe. Jesus Santiago Moure do departamento de Zoologia da Universidade Federal do Paraná; INPA: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia; MZUSP: Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo; NCSU: North Carolina State University. Regiões biogeográficas: AFR: Afrotropical; AUS: Australiana; LNEA: leste-Neártica; LPAL: leste-Paleártica; NNEO: norte-Neotropical; ONEA: oeste-Neártica; ORI: Oriental; OPAL: oeste-Paleártica; SNEO: sul-Neotropical.

#	Táxon	Local do <i>voucher</i>	Código do <i>voucher</i>	Procedência	Região biogeográfica
	Trichopezinae (Brachystomatidae)				
1	<i>Hyperperacera nemoralis</i> Ocydromiinae (Hybotidae)	NCSU	hyper	Chile	SNEO
2	<i>Oropezella</i> sp. Incertae sedis (Empididae)	NCSU	mm107	Costa Rica	NNEO
3	<i>Hesperempis</i> sp.	NCSU	hesper	EUA	ONEA
4	<i>Hormopeza</i> sp.	NCSU	hormo	EUA	LNEA
5	<i>Iteaphila</i> sp.	NCSU	iteaphila	EUA	ONEA
6	<i>Oreogeton scopifer</i>	NCSU	oreog	EUA	ONEA
7	<i>Philetus</i> sp. Empidinae (Empididae)	NCSU	phile	EUA	ONEA
	Hilarini				
8	<i>Aplomera</i> sp.	MZUSP	mm003	Brasil	NNEO
9	<i>Atrichopleura</i> sp.	NCSU	mm017	África do Sul	AFR
10	<i>Hilara obscura</i>	NCSU	higbr	Inglaterra	OPAL
11	<i>Hilara seriata</i>	NCSU	hiser	EUA	LNEA
12	<i>Hilara</i> sp. 1	MZUSP	mm009	Brasil	NNEO
13	<i>Hilara</i> sp. 2	NCSU	hiln102	Equador	NNEO
14	<i>Hilara</i> sp. 3	NCSU	mm167	Hungria	OPAL
15	<i>Hilara</i> sp. 4	NCSU	mm011	África do Sul	AFR
16	<i>Hilarempis</i> sp. 1	NCSU	mm033	Austrália	AUS
17	<i>Hilarempis</i> sp. 2	NCSU	mm109	Costa Rica	NNEO
18	<i>Hilarigona brachygastra</i> Empidini	NCSU	cde036	Chile	SNEO
19	<i>Clinorhampha</i> sp. 1	NCSU	mm077	Argentina	SNEO
20	<i>Clinorhampha</i> sp. 2	NCSU	mm078	Austrália	AUS
21	<i>Clinorhampha</i> sp. 3	NCSU	cde031	Chile	SNEO
22	<i>Empidadelpha sobrina</i>	NCSU	empidad	Chile	SNEO
23	<i>Empis (Anacrostichus)</i> sp.	NCSU	cde052	Coréia	LPAL
24	<i>Empis (Coptophlebia) albinervis</i>	NCSU	cde002	França	OPAL
25	<i>Empis (Coptophlebia) leptomorion</i>	NCSU	cde076	Andorra	OPAL
26	<i>Empis (Coptophlebia)</i> sp. 1	NCSU	cde048	Coréia	LPAL

27	<i>Empis (Coptophlebia) sp. 2</i>	NCSU	copt	Madagascar	AFR
28	<i>Empis (Coptophlebia) sp. 3</i>	NCSU	emp108	Zâmbia	AFR
29	<i>Empis (Coptophlebia) sp. 4</i>	NCSU	emp109	Zâmbia	AFR
30	<i>Empis (Coptophlebia) sp. 5</i>	NCSU	emp111	Zâmbia	AFR
31	<i>Empis (Empis) aestiva</i>	NCSU	cde075	França	OPAL
32	<i>Empis (Empis) chioptera</i>	NCSU	cde020	França	OPAL
33	<i>Empis (Empis) melanotricha</i>	NCSU	cde009	França	OPAL
34	<i>Empis (Empis) nr. malleola 1</i>	NCSU	cde046	Coréia	LPAL
35	<i>Empis (Empis) nr malleola 2</i>	NCSU	cde069	França	OPAL
36	<i>Empis (Empis) nuntia</i>	NCSU	cde064	França	OPAL
37	<i>Empis (Empis) planetica</i>	NCSU	cde068	França	OPAL
38	<i>Empis (Empis) pennipes</i>	NCSU	cde006	França	OPAL
39	<i>Empis (Empis) tanysphyra</i>	NCSU	cde059	França	OPAL
40	<i>Empis (Empis) sp. 1</i>	NCSU	cde047	Coréia	LPAL
41	<i>Empis (Empis) sp. 2</i>	NCSU	cde077	Congo	AFR
42	<i>Empis (Enoplempis) poplitea</i>	NCSU	epop	EUA	ONEA
43	<i>Empis (Kritempis) livida</i>	NCSU	emp06	Inglaterra	OPAL
44	<i>Empis (Lissemphis) sp.</i>	NCSU	cde102	Rússia	OPAL
45	<i>Empis (Planempis) sp.</i>	NCSU	cde044	Coréia	LPAL
46	<i>Empis (Polyblepharis) nr. crassa</i>	NCSU	cde013	França	OPAL
47	<i>Empis (Polyblepharis) sp.</i>	NCSU	cde051	Coréia	LPAL
48	<i>Empis copiosa</i>	NCSU	cde025	Argentina	SNEO
49	<i>Empis fulvicollis</i>	NCSU	cde029	Argentina	SNEO
50	<i>Empis languescens</i>	NCSU	empco	Argentina	SNEO
51	<i>Empis lateralis</i>	NCSU	cde026	Chile	SNEO
52	<i>Empis leptogastra</i>	NCSU	emp114	EUA	LNEA
53	<i>Empis macrorrhyncha</i>	NCSU	cde027	Chile	SNEO
54	<i>Empis nigricolor</i>	NCSU	cde028	Chile	SNEO
55	<i>Empis perpusilla</i>	NCSU	cde024	Argentina	SNEO
56	<i>Empis nr. recordabilis</i>	NCSU	cde030	Chile	SNEO
57	<i>Empis vaginifer</i>	NCSU	emp101	EUA	LNEA
58	<i>Empis sp. 1</i>	NCSU	emca	Argentina	SNEO
59	<i>Empis sp. 2</i>	NCSU	cde063	Austrália	AUS
60	<i>Empis sp. 3</i>	NCSU	emp116	Bolívia	NNEO
61	<i>Empis sp. 4</i>	NCSU	emp117	Bolívia	NNEO
62	<i>Empis sp. 5</i>	NCSU	mm133	Costa Rica	NNEO
63	<i>Empis sp. 6</i>	INPA	mm061	Brasil	NNEO
64	<i>Empis sp. 7</i>	NCSU	emp121	Chile	SNEO
65	<i>Empis sp. 8</i>	NCSU	mm108	Costa Rica	NNEO
66	<i>Empis sp. 9</i>	NCSU	mm118	Costa Rica	NNEO
67	<i>Empis sp. 10</i>	NCSU	mm124	Costa Rica	NNEO
68	<i>Empis sp. 11</i>	NCSU	mm132	Costa Rica	NNEO
69	<i>Empis sp. 12</i>	NCSU	mm137	Costa Rica	NNEO

70	<i>Empis</i> sp. 13	NCSU	mm139	Costa Rica	NNEO
71	<i>Empis</i> sp. 14	NCSU	emp115	Guiana Francesa	NNEO
72	<i>Empis</i> sp. 15	NCSU	emp118	Guiana Francesa	NNEO
73	<i>Empis</i> sp. 16	NCSU	cde053	Coréia	LPAL
74	<i>Empis</i> sp. 17	NCSU	cde055	Coréia	LPAL
75	<i>Empis</i> sp. 18	NCSU	emp110	Mongólia	LPAL
76	<i>Empis</i> sp. 19	NCSU	emp119	Peru	NNEO
77	<i>Empis</i> sp. 20	NCSU	emp120	Peru	NNEO
78	<i>Empis</i> sp. 21	NCSU	emp107	EUA	LNEA
79	<i>Hystriehonotus revelator</i>	NCSU	cde094	Chile	SNEO
80	<i>Hystriehonotus</i> sp.	NCSU	hysr	Argentina	SNEO
81	<i>Lampremis</i> sp. 1	INPA	mm066	Brasil	NNEO
82	<i>Lampremis</i> sp. 2	INPA	mm067	Brasil	NNEO
83	<i>Lampremis</i> sp. 3	NCSU	mm121	Costa Rica	NNEO
84	<i>Lampremis</i> sp. 4	NCSU	mm135	Costa Rica	NNEO
85	<i>Lampremis</i> sp. 5	NCSU	lamp	Peru	NNEO
86	<i>Lampremis</i> sp. 6	NCSU	mm106	Peru	NNEO
87	<i>Lampremis</i> sp. 7	NCSU	cde096	Tailândia	ORI
88	<i>Lampremis</i> sp. 8	NCSU	cde095	Vietnã	ORI
89	<i>Macrostomus</i> sp. 1	DZUP	mm068	Brasil	NNEO
90	<i>Macrostomus</i> sp. 2	INPA	mm147	Brasil	NNEO
91	<i>Macrostomus</i> sp. 3	INPA	mm148	Brasil	NNEO
92	<i>Macrostomus</i> sp. 4	NCSU	mm112	Costa Rica	NNEO
93	<i>Macrostomus</i> sp. 5	NCSU	mm105	Costa Rica	NNEO
94	<i>Macrostomus</i> sp. 6	NCSU	macfg	Guiana Francesa	NNEO
95	<i>Macrostomus</i> sp. 7	NCSU	porph	Peru	NNEO
96	<i>Macrostomus</i> sp. 8	NCSU	mm092	Peru	NNEO
97	<i>Macrostomus</i> sp. 9	NCSU	mm093	Peru	NNEO
98	<i>Macrostomus</i> sp. 10	NCSU	mm094	Peru	NNEO
99	<i>Opeatocerata</i> sp. 1	INPA	mm145	Brasil	NNEO
100	<i>Opeatocerata</i> sp. 2	NCSU	mm119	Costa Rica	NNEO
101	<i>Porphyrochroa</i> sp. 1	INPA	mm040	Brasil	NNEO
102	<i>Porphyrochroa</i> sp. 2	MZUSP	mm042	Brasil	NNEO
103	<i>Porphyrochroa</i> sp. 3	DZUP	mm043	Brasil	NNEO
104	<i>Porphyrochroa</i> sp. 4	DZUP	mm044	Brasil	NNEO
105	<i>Porphyrochroa</i> sp. 5	INPA	mm071	Brasil	NNEO
106	<i>Porphyrochroa</i> sp. 6	NCSU	mm102	Costa Rica	NNEO
107	<i>Porphyrochroa</i> sp. 7	NCSU	mm103	Costa Rica	NNEO
108	<i>Porphyrochroa</i> sp. 8	NCSU	mm104	Costa Rica	NNEO
109	<i>Porphyrochroa</i> sp. 9	NCSU	mm127	Costa Rica	NNEO
110	<i>Porphyrochroa</i> sp. 10	NCSU	mm111	Costa Rica	NNEO
111	<i>Porphyrochroa</i> sp. 11	NCSU	mm113	Costa Rica	NNEO
112	<i>Porphyrochroa</i> sp. 12	NCSU	mm114	Costa Rica	NNEO

113	<i>Porphyrochroa</i> sp. 13	NCSU	mm115	Costa Rica	NNEO
114	<i>Porphyrochroa</i> sp. 14	NCSU	mm122	Costa Rica	NNEO
115	<i>Porphyrochroa</i> sp. 15	NCSU	mm129	Costa Rica	NNEO
116	<i>Porphyrochroa</i> sp. 16	NCSU	mm130	Costa Rica	NNEO
117	<i>Porphyrochroa</i> sp. 17	NCSU	mm138	Costa Rica	NNEO
118	<i>Porphyrochroa</i> sp. 18	NCSU	mm140	Costa Rica	NNEO
119	<i>Porphyrochroa</i> sp. 19	NCSU	mm142	Costa Rica	NNEO
120	<i>Porphyrochroa</i> sp. 20	NCSU	mm144	Costa Rica	NNEO
121	<i>Porphyrochroa</i> sp. 21	CNC	mm097	Equador	NNEO
122	<i>Porphyrochroa</i> sp. 22	CNC	mm098	Equador	NNEO
123	<i>Porphyrochroa</i> sp. 23	CNC	mm099	Ecuador	NNEO
124	<i>Porphyrochroa</i> sp. 24	NCSU	rha130	Peru	NNEO
125	<i>Rhamphomyia (Aclonempis) longipes</i>	NCSU	cde005	França	OPAL
126	<i>Rhamphomyia (Actenempis) villosura</i>	NCSU	actvi	EUA	LNEA
127	<i>Rhamphomyia (Alpinomyia) sp.</i>	NCSU	cde016	França	OPAL
128	<i>Rhamphomyia (Amydroneura) erythrophthalma</i>	NCSU	cde011	França	OPAL
129	<i>Rhamphomyia (Argyrempis) sp. 1</i>	NCSU	cde097	Tailândia	ORI
130	<i>Rhamphomyia (Argyrempis) sp. 2</i>	NCSU	arso	EUA	LNEA
131	<i>Rhamphomyia (Calorhamphomyia) compta</i>	NCSU	cacom	EUA	LNEA
132	<i>Rhamphomyia (Coloterthron) umbrosa</i>	NCSU	rha106	EUA	LNEA
133	<i>Rhamphomyia (Eorhamphomyia) scutellaris</i>	NCSU	rha102	EUA	ONEA
134	<i>Rhamphomyia (Holoclera) flaviventris</i>	NCSU	cde062	França	OPAL
135	<i>Rhamphomyia (Holoclera) nigripennis</i>	NCSU	cde018	França	OPAL
136	<i>Rhamphomyia (Holoclera) sp. 1</i>	NCSU	rha103	EUA	ONEA
137	<i>Rhamphomyia (Holoclera) sp. 2</i>	NCSU	rha109	EUA	LNEA
138	<i>Rhamphomyia (Megacyttarus) crassirostris</i>	NCSU	cde070	França	LPAL
139	<i>Rhamphomyia (Megacyttarus) sp.</i>	NCSU	cde100	Coréia	LNEA
140	<i>Rhamphomyia (Megandria) longicauda</i>	NCSU	r4	EUA	OPAL
141	<i>Rhamphomyia (Orientomyia) sp.</i>	NCSU	cde107	Japão	LPAL
142	<i>Rhamphomyia (Pararhamphomyia) barbata</i>	NCSU	cde101	França	OPAL
143	<i>Rhamphomyia (Pararhamphomyia) marginata</i>	NCSU	cde066	França	OPAL
144	<i>Rhamphomyia (Pararhamphomyia) nr. ciliatopode-setosa</i>	NCSU	cde050	Coréia	LPAL
145	<i>Rhamphomyia (Pararhamphomyia) nr. lamnifera</i>	NCSU	cde045	Coréia	LPAL
146	<i>Rhamphomyia (Pararhamphomyia) tibiella</i>	NCSU	cde074	França	OPAL
147	<i>Rhamphomyia (Pararhamphomyia) sp.</i>	NCSU	cde049	Coréia	LPAL
148	<i>Rhamphomyia (Ramphomyia) sp.</i>	NCSU	cde056	Coréia	LPAL
149	<i>Rhamphomyia interseta</i>	NCSU	cde041	Argentina	SNEO

150	<i>Rhamphomyia nitidivittata</i>	NCSU	xunit	EUA	LNEA
151	<i>Rhamphomyia variabilis</i>	NCSU	cde071	França	OPAL
152	<i>Rhamphomyia</i> sp. 1	NCSU	mm081	Argentina	SNEO
153	<i>Rhamphomyia</i> sp. 2	NCSU	cde099	China	ORI
154	<i>Rhamphomyia</i> sp. 3	NCSU	mm128	Costa Rica	NNEO
155	<i>Rhamphomyia</i> sp. 4	NCSU	cde098	Japão	LPAL
156	<i>Rhamphomyia</i> sp. 5	NCSU	cde057	Coréia	LPAL
157	<i>Rhamphomyia</i> sp. 6	NCSU	rha112	EUA	ONEA
158	<i>Sphicosa</i> sp. 1	NCSU	cde065	Austrália	AUS
159	<i>Sphicosa</i> sp. 2	NCSU	sphic	Chile	SNEO
160	<i>Sphicosa</i> sp. 3	MZUSP	mm055	Brasil	NNEO

Tabela 3: Conjunto de iniciadores utilizados neste estudo para amplificar e sequenciar o gene COI e as quatro primeiras subunidades do gene CAD.

Gene	Primer	Referência*	Sequência (5' to 3')
CAD 1	54F	M&W (2004)	GTN GTN TTY CAR ACN GGN ATG GT
	364R	M&W (2004)	TCN ACN GCR AAN CCR TGR TTY TG
	60F	desenhado	GAR GTN GTN TTY CAR ACN GGN AT
	405R	M&W (2004)	GCN GTR TGY TCN GGR TGR AAY TG
	320F	M&W (2004)	ATH TTY GGN ATY TGY YTG GGN CAY CA
	410R	desenhado	GGN CCN GCN GTR TGY TCN GGR TG
CAD 2	292F	desenhado	AGY AAT GGN CCN GGH GAT CC
	635R	desenhado	CCA CCY ART GAA AAK GCH GC
	318F	desenhado	CCA ATT TTT TGG NAT WTG YTT RGG
	640R	desenhado	CTD GCC ATS ACS GGR TAS CC
	338F	M&W (2004)	ATG AAR TAY GGY AAT CGT GGH CAY AA
	680R	M&W (2004)	AAN GCR TCN CGN ACM ACY TCR TAY TC
CAD 3	538F	desenhado	AAT CCN AAT ATW GCW CAN GT
	822R	desenhado	GAR CTN CCS ATA TTY TTR CT
	564F	desenhado	GTN GAR CAR GTN ATH AAA GC
	606F	desenhado	ATG GGH ACN CCR ATH CAR TC
	830R	desenhado	CAG GAA ACA GCT ATG ACT CSC CNA CAC TYT TCA T
	581F	M&W (2004)	GAN ACT GAR GAY MGR AAA ATM TTY GC
	581F2	M&W (2004)	GGW GGW CAA ACW GCW YTM AAY TGY GG
	843R	M&W (2004)	GCY TTY TGR AAN GCY TCY TCR AA
CAD 4	843R2	M&W (2004)	TCN ACC ATW CKN ARW GCY TTY TGR AA
	787F	M&W (2004)	GGD GTN ACN ACN GCN TGY TTY GAR CC
	1071R	desenhado	TCC ATN ACD ACY TCR AAD GA
	758F	desenhado	AGY AAA GCD ACH GGD TAT CC
	1103R	desenhado	ATC CAT NGC AAT RTT RTT YGG
	798F	desenhado	GAT TAY TGT GTD GTD AAR ATD CC
	1098R	M&W (2004)	TTN GGN AGY TGN CCN CCC AT
	1098Rb	desenhado	TTY GYY AAY TGN CCY CCS AT
COI	1490F	F <i>et al.</i> (1994)	GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G
	2198R	F <i>et al.</i> (1994)	TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA
	2191R	S <i>et al.</i> (1994)	CCC GGT AAA ATT AAA ATA TAA ACT TC
	1460F	S <i>et al.</i> (1994)	TAC AAT TTA TCG CCT AAA CTT CAG CC
	2329R	S <i>et al.</i> (1994)	ACT GTA AAT ATA TGA TGA GCT CA

*Desenhado: *primer* desenhado no presente estudo.

*F *et al.* (1994): *primer* publicado no trabalho de Folmer *et al.* (1994).

*M&W (2004): *primer* publicado no trabalho de Moulton e Wiegmann (2004).

*S *et al.* (1994): *primer* publicado no trabalho de Simon *et al.* (1994).

Tabela 4: Lista dos terminais incluídos nas análises moleculares (Empidini e os grupos-externos) e respectivos números de acesso do GenBank (quando disponível). A presença de Y indica que o gene foi sequenciado para a espécie.

#	Táxon	GenBank #				
		CAD 1	CAD 2	CAD 3	CAD4	COI
	Trichopezinae (Brachystomatidae)					
1	<i>Hyperperacera nemoralis</i> Ocydromiinae (Hybotidae)	DQ369294	Y	Y	Y	Y
2	<i>Oropezella</i> sp. Incertae sedis (Empididae)	Y	Y	Y	Y	Y
3	<i>Hesperempis</i> sp.	DQ369279	Y	Y	Y	
4	<i>Hormopeza</i> sp.	DQ369306	Y	Y	Y	
5	<i>Iteaphila</i> sp.	AY280685	Y	Y	Y	
6	<i>Oreogeton scopifer</i>	DQ369287	Y	Y	Y	Y
7	<i>Philetus</i> sp. Empidinae (Empididae)	Y	Y	Y		Y
	Hilarini					
8	<i>Aplomera</i> sp.	Y		Y	Y	Y
9	<i>Atrichopleura</i> sp.	Y	Y	Y	Y	Y
10	<i>Hilara obscura</i>	Y	Y	Y	Y	Y
11	<i>Hilara seriata</i>	Y	Y	Y	Y	Y
12	<i>Hilara</i> sp. 1	Y	Y	Y	Y	Y
13	<i>Hilara</i> sp. 2	Y	Y	Y	Y	Y
14	<i>Hilara</i> sp. 3		Y	Y	Y	Y
15	<i>Hilara</i> sp. 4	Y	Y	Y	Y	Y
16	<i>Hilarempis</i> sp. 1	Y		Y	Y	Y
17	<i>Hilarempis</i> sp. 2	Y	Y	Y	Y	Y
18	<i>Hilarigona brachygastera</i> Empidini	Y	Y	Y	Y	Y
19	<i>Clinorhampha</i> sp. 1	Y	Y	Y		Y
20	<i>Clinorhampha</i> sp. 2	Y	Y	Y	Y	Y
21	<i>Clinorhampha</i> sp. 3	Y	Y	Y	Y	Y
22	<i>Empidadelphina</i> sp.	Y	Y	Y	Y	Y
23	<i>Empis (Anacrostichus)</i> sp.	Y	Y	Y	Y	Y
24	<i>Empis (Coptophlebia) albinervis</i>	Y	Y	Y	Y	Y
25	<i>Empis (Coptophlebia) leptomorion</i>	Y	Y	Y	Y	Y
26	<i>Empis (Coptophlebia)</i> sp. 1	Y	Y	Y	Y	Y
27	<i>Empis (Coptophlebia)</i> sp. 2	Y	Y	Y	Y	Y
28	<i>Empis (Coptophlebia)</i> sp. 3	Y	Y	Y	Y	Y
29	<i>Empis (Coptophlebia)</i> sp. 4		Y	Y	Y	Y
30	<i>Empis (Coptophlebia)</i> sp. 5	Y	Y	Y	Y	Y
31	<i>Empis (Empis) aestiva</i>	Y	Y			Y
32	<i>Empis (Empis) chioptera</i>	Y	Y	Y	Y	Y
33	<i>Empis (Empis) melanotricha</i>	Y	Y			Y
34	<i>Empis (Empis) nr. malleola 1</i>	Y				Y
35	<i>Empis (Empis) nr. malleola 2</i>	Y				Y

36	<i>Empis (Empis) nuntia</i>	Y	Y	Y	Y	Y
37	<i>Empis (Empis) planetica</i>	Y	Y	Y	Y	Y
38	<i>Empis (Empis) pennipes</i>	Y	Y	Y	Y	Y
39	<i>Empis (Empis) tanysphyra</i>	Y	Y	Y	Y	Y
40	<i>Empis (Empis) sp. 1</i>	Y	Y	Y	Y	Y
41	<i>Empis (Empis) sp. 2</i>	Y	Y	Y	Y	Y
42	<i>Empis (Enoplempis) poplitea</i>	Y	Y	Y	Y	Y
43	<i>Empis (Kritempis) livida</i>	Y	Y	Y	Y	Y
44	<i>Empis (Lissemphis) sp.</i>	Y	Y	Y	Y	Y
45	<i>Empis (Planempis) sp.</i>	Y	Y	Y	Y	Y
46	<i>Empis (Polyblepharis) nr. crassa</i>	Y	Y	Y	Y	Y
47	<i>Empis (Polyblepharis) sp.</i>	Y	Y	Y	Y	Y
48	<i>Empis copiosa</i>	Y	Y	Y	Y	Y
49	<i>Empis fulvicollis</i>	Y	Y	Y	Y	Y
50	<i>Empis languescens</i>	Y	Y	Y	Y	Y
51	<i>Empis lateralis</i>	Y	Y	Y	Y	Y
52	<i>Empis leptogastra</i>		Y	Y	Y	Y
53	<i>Empis macrorrhyncha</i>	Y	Y	Y	Y	Y
54	<i>Empis nigricolor</i>	Y	Y	Y	Y	Y
55	<i>Empis perpusilla</i>	Y	Y	Y	Y	Y
56	<i>Empis nr. recordabilis</i>	Y	Y	Y	Y	Y
57	<i>Empis vaginifer</i>	Y	Y	Y	Y	Y
58	<i>Empis sp. 1</i>	Y	Y	Y	Y	Y
59	<i>Empis sp. 2</i>	Y	Y	Y		Y
60	<i>Empis sp. 3</i>	Y	Y	Y	Y	Y
61	<i>Empis sp. 4</i>	Y	Y	Y	Y	Y
62	<i>Empis sp. 5</i>	Y		Y	Y	Y
63	<i>Empis sp. 6</i>	Y	Y	Y	Y	
64	<i>Empis sp. 7</i>	Y	Y	Y	Y	Y
65	<i>Empis sp. 8</i>	Y	Y	Y	Y	Y
66	<i>Empis sp. 9</i>	Y	Y	Y	Y	Y
67	<i>Empis sp. 10</i>	Y	Y	Y	Y	Y
68	<i>Empis sp. 11</i>	Y	Y	Y	Y	Y
69	<i>Empis sp. 12</i>	Y	Y	Y	Y	Y
70	<i>Empis sp. 13</i>	Y		Y	Y	Y
71	<i>Empis sp. 14</i>	Y	Y	Y	Y	Y
72	<i>Empis sp. 15</i>	Y	Y	Y	Y	Y
73	<i>Empis sp. 16</i>	Y	Y	Y	Y	Y
74	<i>Empis sp. 17</i>	Y	Y	Y	Y	Y
75	<i>Empis sp. 18</i>	Y	Y	Y	Y	Y
76	<i>Empis sp. 19</i>	Y	Y	Y	Y	Y
77	<i>Empis sp. 20</i>	Y	Y	Y	Y	Y
78	<i>Empis sp. 21</i>	Y	Y	Y	Y	Y
79	<i>Hystrichonotus revelator</i>	Y	Y	Y	Y	Y
80	<i>Hystrichonotus sp.</i>	Y	Y	Y	Y	Y
81	<i>Lamprempis sp. 1</i>	Y	Y	Y	Y	Y

82	<i>Lampremis</i> sp. 2	Y		Y		Y
83	<i>Lampremis</i> sp. 3	Y	Y	Y	Y	Y
84	<i>Lampremis</i> sp. 4	Y	Y	Y	Y	Y
85	<i>Lampremis</i> sp. 5	Y	Y	Y	Y	Y
86	<i>Lampremis</i> sp. 6	Y	Y	Y	Y	Y
87	<i>Lampremis</i> sp. 7	Y	Y	Y	Y	Y
88	<i>Lampremis</i> sp. 8	Y	Y	Y	Y	Y
89	<i>Macrostomus</i> sp. 1	Y	Y			Y
90	<i>Macrostomus</i> sp. 2	Y	Y	Y	Y	Y
91	<i>Macrostomus</i> sp. 3	Y	Y			Y
92	<i>Macrostomus</i> sp. 4	Y	Y	Y		Y
93	<i>Macrostomus</i> sp. 5	Y		Y	Y	Y
94	<i>Macrostomus</i> sp. 6	Y	Y	Y	Y	Y
95	<i>Macrostomus</i> sp. 7	Y	Y	Y	Y	
96	<i>Macrostomus</i> sp. 8	Y	Y			Y
97	<i>Macrostomus</i> sp. 9	Y	Y			Y
98	<i>Macrostomus</i> sp. 10	Y	Y	Y		Y
99	<i>Opeatocerata</i> sp. 1	Y	Y	Y	Y	Y
100	<i>Opeatocerata</i> sp. 2	Y	Y	Y	Y	Y
101	<i>Porphyrochroa</i> sp. 1	Y	Y			Y
102	<i>Porphyrochroa</i> sp. 2	Y	Y			Y
103	<i>Porphyrochroa</i> sp. 3	Y	Y	Y	Y	Y
104	<i>Porphyrochroa</i> sp. 4	Y	Y			Y
105	<i>Porphyrochroa</i> sp. 5	Y	Y			Y
106	<i>Porphyrochroa</i> sp. 6	Y	Y			Y
107	<i>Porphyrochroa</i> sp. 7	Y	Y			Y
108	<i>Porphyrochroa</i> sp. 8	Y				Y
109	<i>Porphyrochroa</i> sp. 9	Y	Y			Y
110	<i>Porphyrochroa</i> sp. 10	Y	Y			Y
111	<i>Porphyrochroa</i> sp. 11	Y	Y	Y	Y	Y
112	<i>Porphyrochroa</i> sp. 12	Y	Y			Y
113	<i>Porphyrochroa</i> sp. 13	Y	Y			Y
114	<i>Porphyrochroa</i> sp. 14	Y	Y	Y	Y	Y
115	<i>Porphyrochroa</i> sp. 15	Y	Y			Y
116	<i>Porphyrochroa</i> sp. 16	Y	Y	Y		Y
117	<i>Porphyrochroa</i> sp. 17	Y		Y		Y
118	<i>Porphyrochroa</i> sp. 18	Y	Y	Y	Y	Y
119	<i>Porphyrochroa</i> sp. 19		Y			Y
120	<i>Porphyrochroa</i> sp. 20	Y	Y			Y
121	<i>Porphyrochroa</i> sp. 21	Y	Y			Y
122	<i>Porphyrochroa</i> sp. 22	Y	Y			Y
123	<i>Porphyrochroa</i> sp. 23	Y	Y			Y
124	<i>Porphyrochroa</i> sp. 24	Y	Y	Y	Y	Y
125	<i>Rhamphomyia</i> (<i>Aclonempis</i>) <i>longipes</i>	Y	Y	Y	Y	Y
126	<i>Rhamphomyia</i> (<i>Actenempis</i>) <i>villosura</i>	Y		Y	Y	Y
127	<i>Rhamphomyia</i> (<i>Alpinomyia</i>) sp.	Y	Y	Y	Y	Y

128	<i>Rhamphomyia</i> (<i>Amydroneura</i>) <i>erythrophthalma</i>	Y	Y	Y	Y	Y
129	<i>Rhamphomyia</i> (<i>Argyrempis</i>) sp. 1	Y	Y	Y	Y	Y
130	<i>Rhamphomyia</i> (<i>Argyrempis</i>) sp. 2	Y	Y	Y	Y	Y
131	<i>Rhamphomyia</i> (<i>Calorhamphomyia</i>) <i>compta</i>	Y		Y	Y	Y
132	<i>Rhamphomyia</i> (<i>Coloterthron</i>) <i>umbrosa</i>	Y	Y	Y	Y	Y
133	<i>Rhamphomyia</i> (<i>Eorhamphomyia</i>) <i>scutellaris</i>	Y	Y	Y	Y	Y
134	<i>Rhamphomyia</i> (<i>Holoclera</i>) <i>flaviventris</i>	Y	Y	Y	Y	Y
135	<i>Rhamphomyia</i> (<i>Holoclera</i>) <i>nigripennis</i>	Y	Y	Y	Y	Y
136	<i>Rhamphomyia</i> (<i>Holoclera</i>) sp. 1	Y	Y	Y	Y	Y
137	<i>Rhamphomyia</i> (<i>Holoclera</i>) sp. 2	Y	Y	Y	Y	Y
138	<i>Rhamphomyia</i> (<i>Megacyttarus</i>) <i>crassirostris</i>	Y	Y	Y	Y	Y
139	<i>Rhamphomyia</i> (<i>Megacyttarus</i>) sp.	Y	Y	Y	Y	Y
140	<i>Rhamphomyia</i> (<i>Megandria</i>) <i>longicauda</i>	Y	Y	Y	Y	Y
141	<i>Rhamphomyia</i> (<i>Orientomyia</i>) sp.	Y	Y	Y	Y	Y
142	<i>Rhamphomyia</i> (<i>Pararhamphomyia</i>) <i>barbata</i>	Y	Y	Y	Y	Y
143	<i>Rhamphomyia</i> (<i>Pararhamphomyia</i>) <i>marginata</i>	Y	Y	Y	Y	Y
144	<i>Rhamphomyia</i> (<i>Pararhamphomyia</i>) nr. <i>ciliatopode-setosa</i>	Y	Y	Y	Y	Y
145	<i>Rhamphomyia</i> (<i>Pararhamphomyia</i>) nr. <i>lamnifera</i>	Y	Y	Y	Y	Y
146	<i>Rhamphomyia</i> (<i>Pararhamphomyia</i>) <i>tibiella</i>	Y	Y	Y	Y	Y
147	<i>Rhamphomyia</i> (<i>Pararhamphomyia</i>) sp.	Y	Y	Y	Y	Y
148	<i>Rhamphomyia</i> (<i>Ramphomyia</i>) sp.	Y	Y	Y	Y	Y
149	<i>Rhamphomyia</i> <i>interseta</i>	Y	Y	Y	Y	Y
150	<i>Rhamphomyia</i> <i>nitidivittata</i>	Y	Y	Y	Y	Y
151	<i>Rhamphomyia</i> <i>variabilis</i>	Y	Y	Y	Y	Y
152	<i>Rhamphomyia</i> sp. 1	Y	Y	Y		Y
153	<i>Rhamphomyia</i> sp. 2	Y	Y	Y	Y	Y
154	<i>Rhamphomyia</i> sp. 3	Y	Y	Y	Y	Y
155	<i>Rhamphomyia</i> sp. 4	Y	Y	Y	Y	Y
156	<i>Rhamphomyia</i> sp. 5	Y	Y	Y	Y	Y
157	<i>Rhamphomyia</i> sp. 6	Y	Y	Y	Y	Y
158	<i>Sphicosa</i> sp. 1	Y	Y	Y		Y
159	<i>Sphicosa</i> sp. 2	Y	Y	Y	Y	Y
160	<i>Sphicosa</i> sp. 3	Y	Y	Y	Y	Y

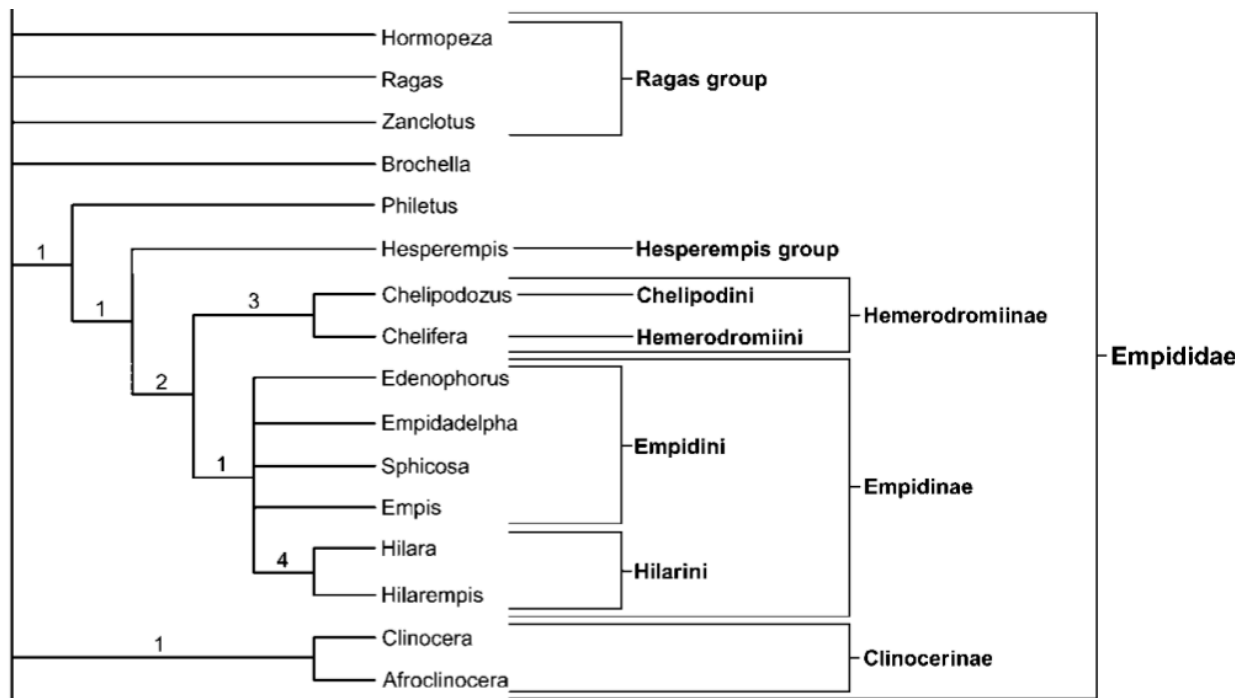


Figura 1: Porção da família Empididae do consenso estrito de 1728 cladogramas mais parcimoniosos produzido através da análise de dados morfológicos (de Sinclair & Cumming, 2006).

Figura 2: Cladograma de consenso estrito das oito árvores mais parcimoniosas mostrando as relações de parentesco entre as espécies da tribo Empidini e os grupos externos adicionados inferido pelo método de parcimônia. Análise combinada das cinco partições estudadas, COI+CAD1+CAD2+CAD3+CAD4 (160 terminais; 3926 caracteres; 1934 caracteres informativos para parcimônia).

Figura 3: Filograma mostrando as relações de parentesco entre as espécies da tribo Empidini e os grupos externos adicionados inferido pelo método de máxima verossimilhança (-lnL=132581.5501). Análise combinada das cinco partições estudadas, COI+CAD1+CAD2+CAD3+CAD4 (160 terminais, 3926 caracteres). O modelo GTR+I+ Γ foi o sugerido para a partição do gene CAD e o modelo HKY+I+ Γ foi o sugerido para a partição do gene COI.

Figura 4: Filograma de consenso mostrando as relações de parentesco entre as espécies da tribo Empidini e os grupos externos adicionados inferido pelo método de inferência bayesiana. Análise combinada das cinco partições estudadas, COI+CAD1+CAD2+CAD3+CAD4 (160 terminais e 3926 caracteres). Os valores das probabilidades posteriores associadas a cada clado estão representados na frente de cada nó. Os valores de bootstrap de máxima verossimilhança acima de 50% estão indicados nos nós correspondentes das categorias elevadas. O modelo GTR+I+ Γ foi o sugerido para a partição do gene CAD e o modelo HKY+I+ Γ foi o sugerido para a partição do gene COI.

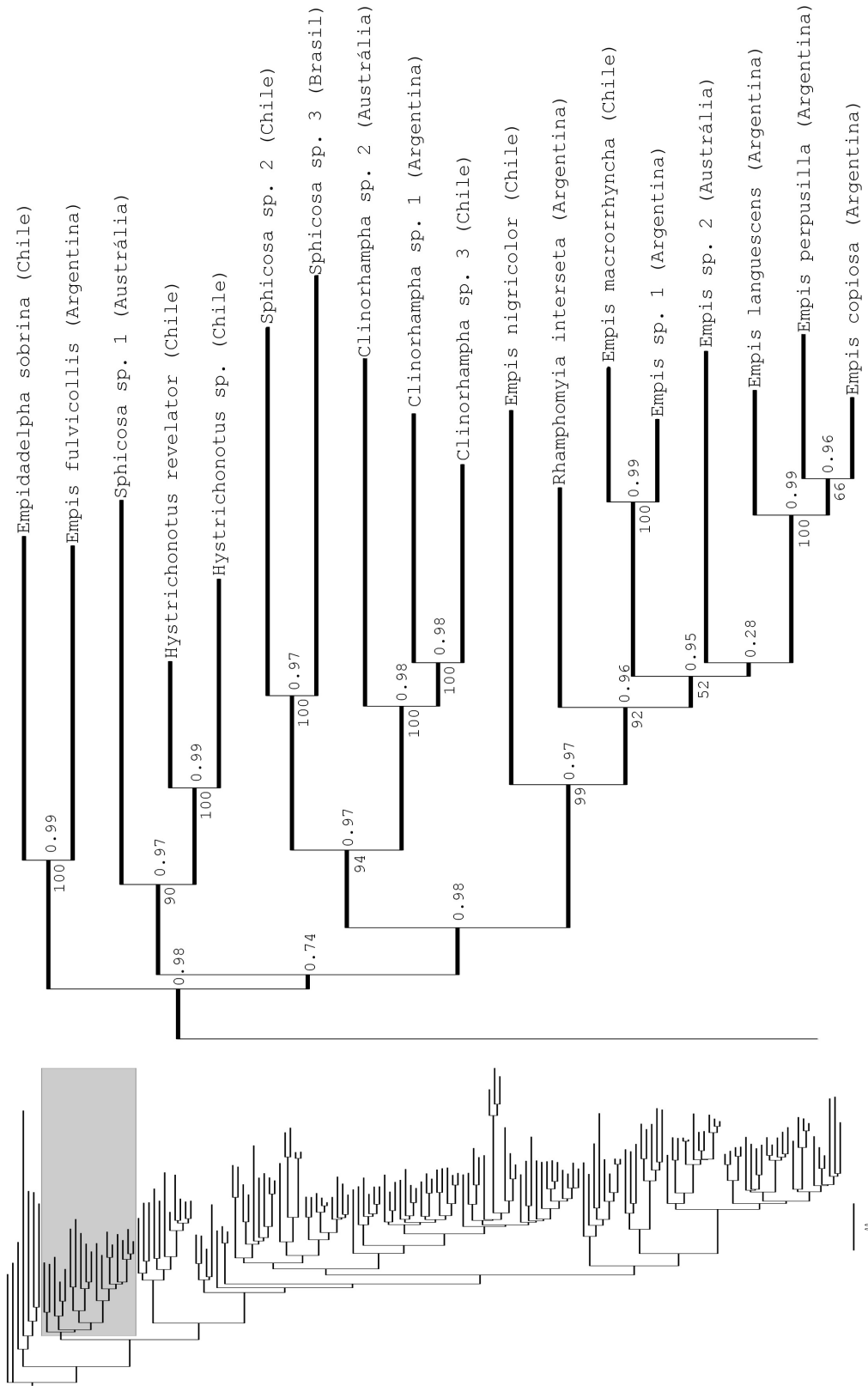


Figura 5: Filograma mostrando as relações de parentesco entre as espécies da tribo Empidini e os grupos externos adicionados, inferido pelo método de inferência bayesiana. Análise combinada das cinco partições estudadas, COI+CAD1+CAD2+CAD3+CAD4 (160 terminais e 3926 caracteres). Os valores das probabilidades posteriores associadas a cada clado estão representados na frente de cada nó. Os valores de bootstrap de máxima verossimilhança acima de 50% estão indicados nos nós correspondentes. O clado destacado em cinza (à esquerda) é mostrado em zoom maior à direita e corresponde ao grupo Sphicosa (de Daugeron & Winkler, 2010).

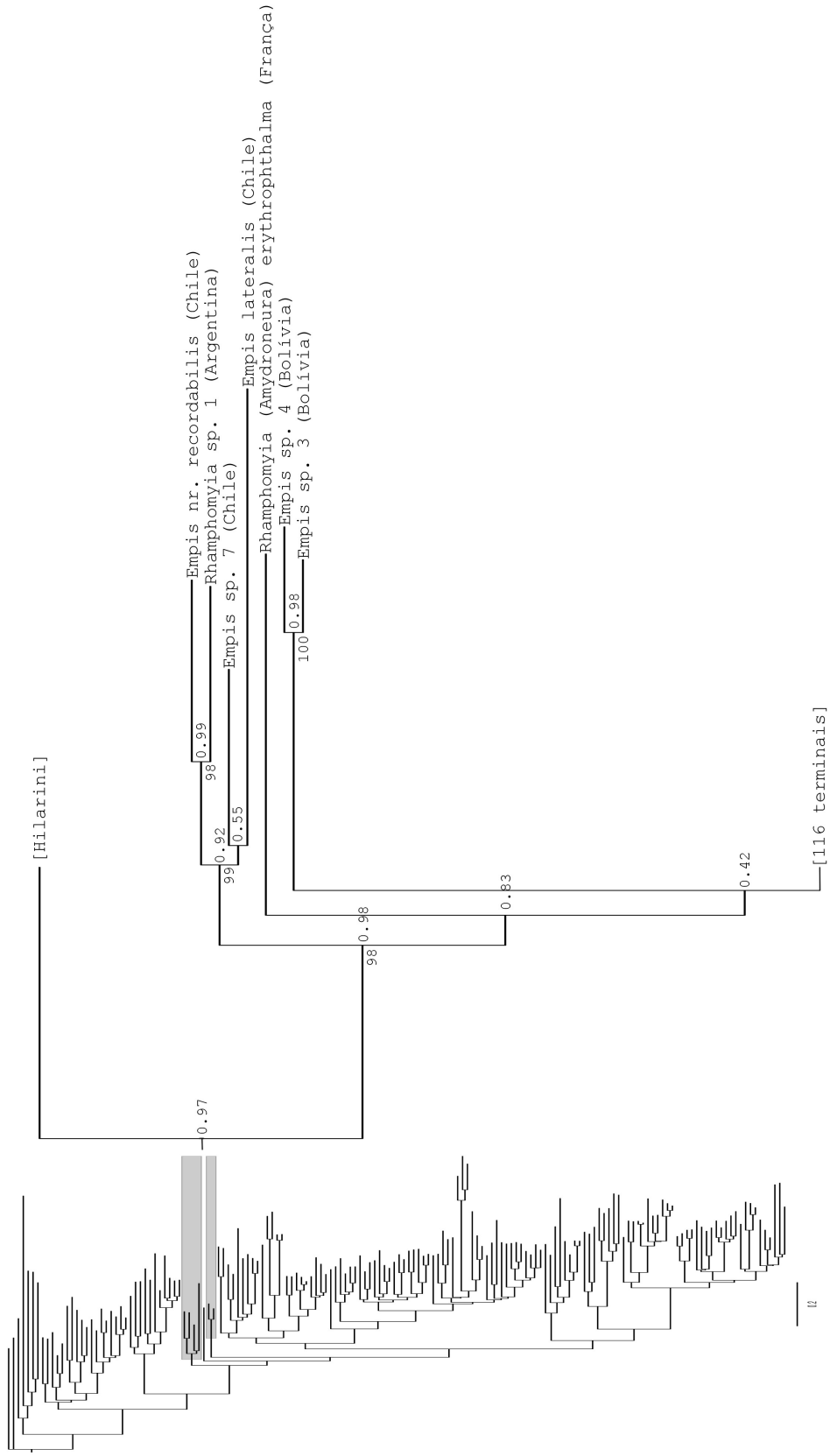


Figura 6: Filograma mostrando as relações de parentesco entre as espécies da tribo Empidini e os grupos externos adicionados, inferido pelo método de inferência bayesiana. Análise combinada das cinco partições estudadas, COI+CAD1+CAD2+CAD3+CAD4 (160 terminais e 3926 caracteres). Os valores das probabilidades posteriores associadas a cada clado estão representados na frente de cada nó. Os valores de bootstrap de máxima verossimilhança acima de 50% estão indicados nos nós correspondentes. O clado destacado em cinza (à esquerda) é mostrado em zoom maior à direita e corresponde ao segundo grupo tratado no texto.

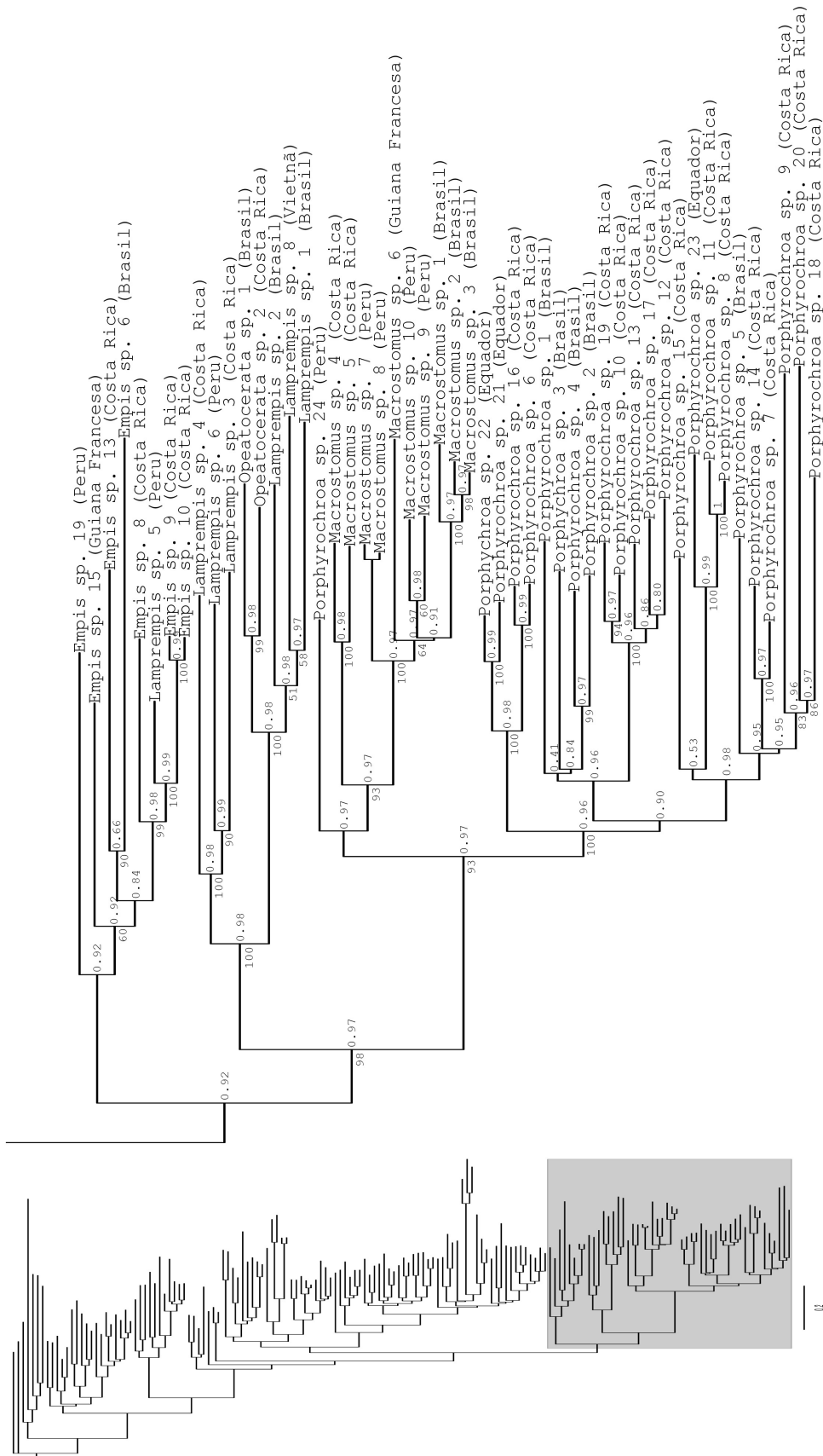


Figura 8: Filograma mostrando as relações de parentesco entre as espécies da tribo Empidini e os grupos externos adicionados, inferido pelo método de inferência bayesiana. Análise combinada das cinco partições estudadas, COI+CAD1+CAD2+CAD3+CAD4 (160 terminais e 3926 caracteres). Os valores das probabilidades posteriores associadas a cada clado estão representados na frente de cada nó. Os valores de bootstrap de máxima verossimilhança acima de 50% estão indicados nos nós correspondentes. O clado destacado em cinza (à esquerda) é mostrado em zoom maior à direita e corresponde ao quarto grupo tratado no texto.

CAPÍTULO II:
FILOGENIA MOLECULAR DE HILARINI
(EMPIDIDAE: EMPIDINAE)

RESUMO

A tribo Hilarini (Diptera: Empididae: Empidinae) é um grupo diverso com 18 gêneros reconhecidos [número de espécies]: *Afroempis* Smith [1], *Allochrotus* Collin [1], *Amictoides* Bezzi [1], *Aplomera* Macquart [16], *Atrichopleura* Bezzi [26], *Bandella* Bickel [9], *Cunomyia* Bickel [1], *Deuteronista* Philippi [8], *Eugowra* Bickel [3], *Gynatoma* Collin [6], *Hilara* Meigen [389], *Hilarempis* Bezzi [110], *Hilarigona* Collin [25], *Hybomyia* Plant [1], *Munburra* Bickel [1], *Pasitrichotus* Collin [1], *Thinempis* Bickel [6] e *Trichohilara* Collin [1]. A tribo ocorre em todas as regiões biogeográficas, embora seja muito mais diversa no Hemisfério Sul. O gênero *Hilara* é o único da tribo com ocorrência no Hemisfério Norte (regiões Neártica e Paleártica), enquanto que as regiões Neotropical e Australiana abrigam a maior parte dos gêneros: seis gêneros de Hilarini são endêmicos para o neotrópico enquanto sete são para a Região Australiana. Hilarini tem sido considerada uma tribo monofilética em alguns poucos estudos prévios. Sequências de DNA dos genes CAD e COI foram usadas para inferir a filogenia de Hilarini, focando no reconhecimento de grupos monofiléticos. A matriz concatenada das cinco porções gênicas inclui 3889 caracteres e 92 terminais. O grupo-interno foi formado por 54 espécies de Hilarini em oito gêneros para cinco regiões biogeográficas (apenas para a Região Oriental, onde ocorrem 36 espécies de *Hilara* e uma espécie de *Hilarigona* não foram incluídos táxons). Outros 38 táxons formaram o grupo-externo. Os resultados obtidos através dos três critérios de otimização usados (parcimônia, máxima verossimilhança e inferência bayesiana) foram altamente similares, com a maioria dos agrupamentos genéricos em comum e reafirmando a monofilia da tribo Hilarini, além da parafilia de Empidini. Todas as espécies laurásicas aparecem em um único clado, enquanto que as espécies das demais regiões foram encontrados em dois ramos, um basal com duas espécies (*Hilara* do Equador e *Thinempis* da Austrália), e outro apical incluindo as demais espécies da tribo. *Aplomera* foi o único gênero da tribo encontrado como sendo parafilético. Os demais gêneros aqui incluídos aparecem como polifiléticos (*Atrichopleura*, *Deuteronista*, *Hilara*, *Hilarempis* e *Hilarigona*). Para os gêneros *Pasitrichotus* e *Thinempis* apenas uma espécie foi incluída.

Palavras-chave: filogenia molecular, *Hilara*, *Hilarempis*, Hilarini.

ABSTRACT

The tribe Hilarini (Diptera: Empididae: Empidinae) is a diverse group with 18 genera recognized [number of species]: *Afroempis* Smith [1], *Allochrotus* Collin [1], *Amictoides* Bezzi [1], *Aplomera* Macquart [16], *Atrichopleura* Bezzi [26], *Bandella* Bickel [9], *Cunomyia* Bickel [1], *Deuteronista* Philippi [8], *Eugowra* Bickel [3], *Gynatoma* Collin [6], *Hilara* Meigen [389], *Hilarempis* Bezzi [110], *Hilarigona* Collin [25], *Hybomyia* Plant [1], *Munburra* Bickel [1], *Pasitrichotus* Collin [1], *Thinempis* Bickel [6], and *Trichohilara* Collin [1]. The tribe occurs in all biogeographic regions in the world, although it is much more diverse in the Southern Hemisphere. The genus *Hilara* is the only one of the tribe that occurs in the Northern Hemisphere (Nearctic and Palaearctic regions), while the Neotropical and Australian regions have most of the genera: six of those are endemic to the neotropics while seven are found only in the Australian region. Hilarini itself has been considered to be monophyletic, but no one has performed or considered to use a number of species we have in here to test the monophyly of the genera. Focusing on the identification of monophyletic groups, DNA sequences from CAD and COI genes were used to infer the phylogeny of Hilarini. The concatenated matrix includes 3889 characters and 92 terminal taxa. The ingroup include 54 taxa of Hilarini in eight genera from the five biogeographic regions, spanning the diversity within the tribe; other 38 taxa formed the outgroup. Only the Oriental region did not have taxa included, where 36 species of *Hilara* and one species of *Hilarigona* occur. The results from the three optimization criteria used (maximum parsimony, maximum likelihood and bayesian inference) were largely similar, with major groupings of genera in common. Specifically, both analyses recovered a monophyletic Hilarini and a paraphyletic Empidini. All of the laurasic species (Nearctic and Palaearctic regions) came out in a single clade, while the other species, from the Afrotropical, Andean (temperate part of neotropic), Australian and Neotropical regions, were found in two branches: one basal including one species of *Hilara* from Ecuador and one species of *Thinempis* from Australia, and the second branch with all of the other 35 species. *Aplomera* was recovered as a paraphyletic genus while the *Atrichopleura*, *Deuteronista*, *Hilara*, *Hilarempis* and *Hilarigona* were found to be polyphyletic lineages. To *Pasitrichotus* and *Thinempis* only one species was included.

Key words: *Hilara*, *Hilarempis*, Hilarini, molecular phylogeny.

1. INTRODUÇÃO

A subfamília Empidinae, com 30 gêneros reconhecidos, está dividida em duas tribos: a parafilética tribo Empidini (ver capítulo 1) e a tribo Hilarini, reconhecidamente tratada como monofilética (Fig. 1 e 10). A tribo Hilarini está definida com base no laterotergito nu, tíbia anterior com combinação de 8-10 cerdas anteroapicais, cerco normalmente pequeno e não esclerotizado, hipândrio normalmente formando um capuz acima do falo ao longo da margem posterior, costa normalmente circumambiente, R_1 espessada antes de se unir à costa e tarsômero basal anterior do macho desenvolvido (Bickel, 1996).

Hilarini (Diptera: Empididae: Empidinae), assim como Empidini, é um grupo de insetos cosmopolita com eminente diversidade em todo o Hemisfério Sul. Eles são conhecidos como *dance flies* ou *balloon flies* (especialmente no Hemisfério Norte) e são classificados como sendo uma linhagem dentro de Eremoneura – dípteros com três instares larvais (Wiegmann *et al.* 2011; Trautwein *et al.* 2010; Moulton & Wiegmann, 2007; Yeates *et al.* 2007). O nome *balloon flies* é normalmente dado a tribo pelo característico ‘balão’ feito pelos machos da maioria das espécies de *Hilara* (razão pela qual tais espécies apresentam o tarsômero basal mais desenvolvido) e usado como presente nupcial para atrair a fêmea (Cumming, 1994). A transferência destes balões, que muitas vezes podem conter presas no seu interior, ou simplesmente um graveto ou uma folha, ocorre em enxames formados pelos machos.

Hilarini tem 18 gêneros reconhecidos [número total de espécies; número de espécies incluídas]: *Afroempis* Smith [1; 0], *Allochrotus* Collin [1; 0], *Amictoides* Bezzi [1; 0], *Aplomera* Macquart [16; 5], *Atrichopleura* Bezzi [26; 5], *Bandella* Bickel [9; 0], *Cunomyia* Bickel [1; 0], *Deuteragonista* Philippi [8; 3], *Eugowra* Bickel [3; 0], *Gynatoma* Collin [6; 0], *Hilara* Meigen [389; 23], *Hilarempis* Bezzi [110; 10], *Hilarigona* Collin [25; 6], *Hybomyia* Plant [1; 0], *Munburra* Bickel [1; 0], *Pasitrichotus* Collin [1; 1], *Thinempis* Bickel [6; 1] e *Trichohilara* Collin [1; 0]. *Hilara* é o único gênero cosmopolita da Tribo. Seis dos 18 gêneros são endêmicos para a Região Neotropical (*Allochrotus*, *Amictoides*, *Aplomera*, *Deuteragonista*, *Pasitrichotus* e *Trichohilara*), dos quais três foram incluídos nas análises (Tabelas 5-6). Outros sete são encontrados apenas na

Região Australiana (*Bandella*, *Cunomyia*, *Eugowra*, *Gynatoma*, *Hybomyia*, *Munburra* e *Thinempis*), tendo o último sido incluído aqui; *Afroempis* é endêmico para a Região Afrotropical e os demais três gêneros (*Atrichopleura*, *Hilarempis* e *Hilarigona*) possivelmente tem ocorrência em todo o Hemisfério Sul. No contexto mundial, enquanto oito gêneros são monotípicos, cerca de 500 (das 606) espécies de Hilarini estão colocadas em apenas dois gêneros, *Hilara* e *Hilarempis* (Tabela 5). A presente classificação genérica para os Hilarini foi desenvolvida em alguns poucos trabalhos realizados por Macquart (1838), Philippi (1865), Bezzi (1905 e 1909), Collin (1933) e Smith (1962 e 1969). Para os gêneros neotropicais, todas as espécies foram descritas entre 1865 e 1969 e desde então, há mais de 40 anos, nenhum trabalho foi realizado; já para a Região Australiana, onde a tribo Hilarini é taxonomicamente rica e centenas de espécies estão esperando descrição, seis dos gêneros endêmicos foram descritos recentemente por Plant (1995) e Bickel (1996, 1998, 2002 e 2006) e apenas *Gynatoma* foi descrito por Collin (1928). Mesmo para o grande gênero *Hilara*, apenas cerca de 10% das espécies foram descritas nos últimos 20 anos. A tribo Hilarini tem sido tratada como sendo monofilética em trabalhos com dados morfológicos (Daugeron *et al.*, in prep.) e moleculares (Sinclair & Cumming, 2006; Moulton & Wiegmann, 2007; Winkler *et al.*, in prep), o que foi corroborado aqui. Ela está mais proximamente relacionada aos Empidini do Hemisfério Sul do que com o restante (capítulo 1).

Dentro de Hilarini, gêneros complexos compreendendo centenas de espécies são definidos por caracteres que examinados mais atentamente provam ser variáveis em expressão. Por exemplo, o gênero cosmopolita *Hilara* e o gênero restrito ao Hemisfério Sul, *Hilarempis*, ambos ricos em número de espécies, são separados por possuir a veia Sc completa e incompleta, respectivamente, sendo este caráter variável entre as espécies australianas proximamente relacionadas (Bickel, 1996). Além disso, pode ser visto que tal caráter é agora conhecido como tendo aparecido independentemente dentro de múltiplas linhagens de Hilarini (a veia Sc completa é a condição considerada plesiomórfica). Esta consideração torna ainda mais difícil a identificação e a posição das espécies de *Hilara* e *Hilarempis* e o seu relacionamento com gêneros próximos, como *Atrichopleura*, algumas espécies de *Hilarigona* e *Thinempis*. Entretanto, isso não torna o caráter menos importante ou ineficiente para

separar os dois gêneros, pois o hábito, as cerdas e a estrutura da genitália frequentemente corroboram a divisão. Por conta destes caracteres serem variáveis no que diz respeito à expressão e poderem ser qualificados, especialmente em táxons com grande riqueza de espécies, os gêneros tem que ser definidos com um mosaico de caracteres, em uma “classificação polifilética”. Por conta deste pressuposto, não é necessário que todos os caracteres sejam diagnosticados em todos os membros. Essencialmente, caracteres diagnósticos (os quais podem ser apomórficos) nem sempre estão profundamente enraizados no genótipo e são, às vezes, sujeitos à não-expressão fenotípica ou ainda reversão. Na tentativa de solucionar o problema dos gêneros polifiléticos em Hilarini, Bickel (1996, 1998, 2002, 2006) apresentou caracteres que separam os novos gêneros australianos descritos nestes trabalhos de *Hilara* e *Hilarempis*.

A tribo Hilarini ocorre em todas as seis regiões biogeográficas do mundo (Afrotropical, Australiana, Neártica, Neotropical, Oriental e Paleártica), mas com sua biodiversidade maior no Hemisfério Sul (Tabela 5). *Hilara* é o único gênero da tribo que ocorre no Hemisfério Norte (regiões Neártica e Paleártica) e para este gênero, que é o maior da tribo e certamente polifilético, a biodiversidade é especialmente bem documentada, mas apenas para o Hemisfério Norte. Assim como visto para Empidini (capítulo 1), Hilarini apresenta relacionamento entre as espécies presentes na Região Australiana, Afrotropical e Neotropical. Os Empidinae neotropicais formam dois grupos distintos: um presente nas regiões temperadas do Chile e Argentina (Região Andina de Morrone [2001]), e outro presente nas partes mais quentes do neotrópico, relacionamento este também conhecido para outros táxons neotropicais (Löwenberg-Neto & Carvalho, 2009; Nihei & Carvalho, 2007; Morrone, 1994). Seis gêneros de Hilarini tem ocorrência para a Região Andina e tais gêneros apresentam clara afinidade com os presentes na Região Australiana: *Allochrotus*, *Amictoides*, *Aplomera*, *Deuteronista*, *Pasitrichotus* e *Trichohilara*; a distribuição de *Aplomera* é mais ampla, alcançando as regiões mais quentes do neotrópico.

Até o presente momento, *Hilara* e *Hilarempis* tem sido tratados como sendo evolutivamente relacionados, entretanto tais gêneros nunca foram o foco explícito de nenhum estudo filogenético. Por conta disso, estas duas linhagens que possuem a

maior riqueza de espécies, abundância e diversidade em Hilarini, estão recebendo maior atenção neste estudo, na tentativa de que a sua monofilia e relacionamento sejam testados. *Hilara* Meigen (1822) tem como espécie-tipo *Empis maura* Fabricius (da Rússia), que foi designada por Curtis (1826). Já *Hilarempis* foi descrito por Bezzi (1905) e tem *Hilarempis nudifacies* Bezzi como espécie-tipo (do Peru) designada por Smith (1989). Muitas características são compartilhadas entre os táxons neárticos e paleárticos de *Empis*, *Hilara* e *Hilarempis* (Bickel, 1996) e, por conta disso muitas espécies de *Empis* foram transferidas para ambos os gêneros, muitas espécies de *Hilara* foram transferidas para *Hilarempis* e centenas de novas espécies foram descritas (Yang *et al.*, 2007). Atualmente são reconhecidas 389 espécies no gênero *Hilara* e 110 em *Hilarempis*.

2. OBJETIVOS

Inferir as relações de parentesco entre os gêneros *Aplomera*, *Atrichopleura*, *Deuteronista*, *Hilara*, *Hilarempis*, *Hilarigona*, *Pasitrichotus* e *Thinempis* através da reconstrução filogenética molecular. Oferecer suporte para um melhor entendimento da posição sistemática e dos relacionamentos entre estes gêneros da tribo por meio dos relacionamentos apresentados.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Amostragem dos táxons

As 92 espécies usadas na presente análise filogenética foram coletadas por vários colaboradores entre 1999 e 2010 nas cinco regiões biogeográficas em que o grupo ocorre [número de espécies incluídas] (Afrotropical [5], Australiana [8], Neártica [17], Neotropical [52] e Paleártica [10]). Os exemplares foram preservados diretamente em etanol 95-100°GL e armazenados a -20°C. Os testemunhos e material associado encontram-se depositados nas seguintes instituições: Canadian National Collection (CNC, Ottawa, Canadá); Coleção Pe. Jesus Santiago Moure do departamento de Zoologia da Universidade Federal do Paraná (DZUP, Curitiba, PR); e North Carolina State University Insect Collection (NCSU, Raleigh, EUA).

O posicionamento taxonômico apresentado em texto, tabelas e cladogramas segue a proposta da taxonomia corrente de Sinclair e Cumming (2006). A tabela 6 apresenta as espécies utilizadas na análise, sua posição taxonômica, as instituições onde os *vouchers* foram depositados, os códigos dos mesmos, o país de procedência e a região biogeográfica correspondente (o anexo 1 mostra os dados completos de coleta para as espécies da tribo Hilarini usadas, além das espécies que foram usadas para formar o grupo-externo). As 54 espécies de Hilarini incluídas nas análises representam oito gêneros da tribo: *Aplomera*, *Atrichopleura*, *Deuteronista*, *Hilara*, *Hilarempis*, *Hilarigona*, *Pasitrichotus* e *Thinempis*. Espécies de tais gêneros foram obtidos a partir de cinco regiões das seis em que a tribo Hilarini ocorre. Para gêneros cosmopolitas e com grande número de espécies como *Hilara* e *Hilarempis*, foram incluídas espécies de diversas regiões (Tabela 6; Anexo 1). Dez gêneros não foram incluídos, sendo que destes, sete são monotípicos (um afrotropical, três australianos e três andinos) e três são gêneros pequenos endêmicos da Região Australiana (*Bandella*: 9 spp.; *Eugowra*: 3 spp.; e *Gynatoma*: 6 spp.). Todavia, uma vez que todos estes gêneros são endêmicos para regiões temperadas do Hemisfério Sul, seria esperado que estas linhagens fossem filogeneticamente recuperadas em clados com as espécies gonduânicas de Hilarini.

O grupo-externo foi formado por oito espécies reconhecidas em grupos proximamente relacionados à Empidinae: *Hyperperacera nemoralis* Philippi (Brachystomatidae: Trichopezinae), *Oropezella* sp. 1 e *Oropezella* sp. 2 (Hybotidae: Ocydromiinae), três espécies do grupo definido por Sinclair e Cumming (2006) como *incertae sedis* dentro de Empididea: *Hesperempis* sp. Melander, *Hormopeza* sp. Zetterstedt e *Philetus* sp. Melander e outras duas espécies de *incertae sedis* dentro de Empidoidea: *Iteaphila* sp. Zetterstedt e *Oreogeton scopifer* Coquillett. Outras 30 espécies de Empidini em nove gêneros foram adicionadas: *Clinorhampha* Collin (3 spp.), *Empidadelphina* Collin (1 sp.), *Empis* Linnaeus (9 spp.), *Lamprempis* Wheeler & Melander (1 sp.), *Macrostomus* Wiedemann (3 spp.), *Opeatocerata* Melander (1 sp.) e *Porphyrochroa* Melander (4 spp.), *Rhamphomyia* Meigen (6 spp.) e *Sphicosa* Philippi (2 spp.) (Tabela 6).

3.2 Extração de DNA, Amplificação, Purificação do Gel e Sequenciamento

As 416 sequências nucleotídicas dos quatro fragmentos do gene nuclear CAD (CAD1, CAD2, CAD3, e CAD4) e do gene mitocondrial Citocromo Oxidase I foram obtidas a partir de cada espécie e extraídas usando os mesmos procedimentos elucidados detalhadamente no capítulo 1. As regiões de CAD utilizadas correspondem aos primeiros 3030 pares de bases e os demais 859 pb ao gene COI, que correspondem à região *barcoding* do gene, o qual possui cerca de 1400 pb. A tabela 7 detalha quais oligonucleotídeos foram usados como iniciadores para amplificar os genes COI (Simon *et al.* 1994), CAD1, CAD2, CAD3 e CAD4 (Moulton & Wiegmann, 2004), bem como, quais deles foram desenhados especificamente para este estudo. Para maiores informações sobre os genes utilizados, tamanho dos fragmentos de CAD e características gerais, ver seção 3.2 do capítulo 1. Todo o procedimento laboratorial foi realizado no Dipteran Molecular Systematics Lab do Dr. Brian M. Wiegmann, na North Carolina State University (NCSU - Raleigh, NC, EUA).

3.3 Construção dos *contig*, edição e alinhamento dos nucleotídeos

Para a edição das sequências de nucleotídeos e a montagem dos *contigs* para este capítulo utilizou-se o software Sequencher® v4.9 (Gene Codes Corporation, 2009), assim como especificado no capítulo 1. Todas as sequências finais foram depositados no GenBank com os números de registro enumerados na Tabela 8. O alinhamento das quatro regiões do gene CAD (cujo primeiro fragmento tem 1073 pb, o segundo tem 783 pb, o terceiro 528 pb e o quarto tem 820 pb) e do gene COI foi feito manualmente utilizando o Sequence Alignment Editor (Se-Al) v2.0a11 (Rambaut, 2002) de acordo com a tradução de aminoácidos. Na presente matriz, regiões com grande variabilidade e de alinhamento ambíguo foram retiradas das análises (baseando-se no método *Jump-starting alignment*, onde um alinhamento prévio é usado); íntrons não precisaram ser retirados, já que não há ocorrência destas regiões nas subunidades de CAD utilizadas (íntrons ocorrem apenas na subunidade seis do gene). A matriz concatenada dos dados foi obtida através do programa Mesquite v2.74, que ao final apresentou 3889 caracteres (Anexo 3). As duas partições usadas discriminam o gene nuclear do mitocondrial, sendo CAD composto pelos caracteres entre 1 a 3030 e o gene COI formado pelas posições 3031 a 3889, baseando-se no pressuposto de que as sequências pertencentes a cada gene evoluem como unidades discretas.

3.4 Análises filogenéticas

A matriz concatenada final de dados moleculares com as cinco porções dos genes utilizados contém 3889 caracteres nucleotídicos alinhados (anexo 3), dos quais 1697 são caracteres filogeneticamente informativos para parcimônia, 1778 são constantes e 424 são considerados variáveis e filogeneticamente não informativos para parcimônia. Os *gaps* foram tratados como dados ausentes e todos os caracteres tiveram igual peso em todas as análises. Todas as três posições nucleotídicas foram incluídas em todas as análises devido ao nível taxonômico que está sendo trabalhado (subfamília e tribos). O conjunto de dados foi analisado através dos três critérios de otimização para inferência filogenética já descritas detalhadamente no capítulo 1: parcimônia (MP), máxima verossimilhança (MV) e inferência bayesiana (IB). Os modelos de evolução nucleotídica também foram os mesmos sugeridos para os dados

usados no capítulo 1. O enraizamento ocorreu entre *Oreogeton scopifer* (*Incertae sedis*, Empididae) e *Hyperperacera nemoralis* (Brachystomatidae: Trichopezinae). Os valores de suporte dos ramos para as topologias encontradas foram estimados através de análise de *bootstrap* por máxima verossimilhança e da probabilidade posterior pelo método de inferência bayesiana. As árvores obtidas nas análises de inferência bayesiana, máxima verossimilhança e parcimônia foram visualizadas e editadas no programa FigTree 1.3.1 (Rambaut, 2009).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A primeira inferência filogenética para a tribo Hilarini é apresentada, onde os relacionamentos entre os gêneros mais diversos são verificados bem como a posição de Hilarini na topologia da subfamília nominal. As sequências de CAD para 87 táxons foram obtidas para este trabalho, enquanto sequências de cinco táxons foram incluídas de estudos prévios e obtidas do GenBank (ver tabela 7 para número de acesso). O alinhamento final para o gene apresentou 3030 pb (as regiões com grande variabilidade foram removidas) e correspondem às regiões entre os primers 54F e 1098R,; já o gene mitocondrial COI corresponde às regiões entre os primers 1490F e 2329R e 905 pb foram utilizadas (região do *barcoding*).

Foram realizadas análises individuais para cada gene (Anexos 9-13), entretanto os relacionamentos se tornaram resolvidos a medida que as porções do gene CAD foram adicionadas ao gene COI. Análises apenas com o gene COI (Anexo 9), representado pela região do *barcoding*, não resolveram as relações entre os táxons, provavelmente pelos motivos já explicados no capítulo anterior. As porções do gene CAD, por outro lado, se mostraram muito mais informativas e à medida que elas foram adicionados às análises, os relacionamentos tornaram-se cada vez mais resolvidos, mostrando que o gene CAD possui sinal filogenético para resolver as relações dentro da tribo Hilarini (Anexos 10-13). As duas primeiras regiões de CAD (Anexos 10-11) pareceram ser as mais informativas para níveis taxonômicos elevados, resolvendo as relações genéricas e entre as tribos. Os genes CAD3 e CAD4 (Anexos 12-13), por outro lado, resolveram relações inter-específicas. Tendo em vista que os melhores resultados foram obtidos através das análises realizadas com todos os genes (COI, CAD1, CAD2, CAD3, e CAD4), as árvores filogenéticas recuperadas a partir destas análises são as que serão utilizadas para a discussão dos resultados.

A análise de parcimônia com todos os genes encontrou duas árvores igualmente parcimoniosas ($L = 18217$, $CI = 0.21$, $RI = 0.46$). O consenso estrito das duas árvores é mostrado no cladograma da figura 10. Mesmo com o pressuposto já discutido no capítulo 1 de que análises de parcimônia que incluem a terceira posição do códon do gene CAD podem resultar em uma posição filogenética espúria dos táxons devido à

saturação ou composição de bases (Moulton & Wiegmann, 2004; Bertone *et al.*, 2008), o resultado da análise de parcimônia gerou uma árvore que é altamente similar quando comparada à filograma gerado pela máxima verossimilhança (Fig. 11), ou ao gerado pela inferência bayesiana (Fig. 12), ambos também com todos os genes, mostrando que no grupo estudado as três posições do códon possuem sinal filogenético para reconstruir os relacionamentos entre as linhagens.

As análises de bootstrap foram realizadas ao longo do filograma obtido a partir da análise de máxima verossimilhança (MV) (Fig. 11; $-\ln L=83170.34352$). O filograma obtido a partir da análise de inferência bayesiana mostra os valores de probabilidade posterior como suporte dos ramos (Fig. 12).

A subfamília Empidinae também aparece como sendo uma linhagem monofilética, com suporte de bootstrap de 90% e probabilidade posterior de 0.98 (Fig. 11 e 12). A não resolução dos relacionamentos no grupo externo mostra que os grupos proximalmente relacionados à Empidinae precisam ser alvo de estudos taxonômicos e filogenéticos, como já sugerido por outros autores (Sinclair & Cumming, 2006)

Com relação à tribo Hilarini, todas as análises realizadas geraram cladogramas mostrando ser a tribo monofilética (Figs. 10-12). Para melhor visualização dos resultados, o clado formado pelas espécies de Hilarini está destacado na figura 13, onde os valores de suporte de bootstrap e de probabilidade posterior são mostrados, além do país de procedência de cada terminal. A tribo apresenta dois cladogramas principais, sendo que o primeiro mostra a afinidade existente entre as espécies com ocorrência no Hemisfério Sul, o que sugere um relacionamento gonduânico originado no supercontinente do Hemisfério Sul durante o período Jurássico ou Cretáceo inferior, relacionamento este já sugerido por Plant (1995). Tal clado (0.84) é formado por duas espécies, *Hilara* sp. 7 (do Equador) e *Thinempis* sp. (Austrália);

O segundo clado apresenta dois ramos, um formado pelas espécies de *Hilara* com ocorrência no Hemisfério Norte (99; 0.91), o qual também inclui uma espécie de *Atrichopleura* da África do Sul (*A.* sp. 3) e uma espécie de *Hilara* da Austrália (*H.* sp. 3) (Fig. 13), o que deixa claro que os grandes gêneros *Hilara* e *Hilarigona*, bem como *Atrichopleura*, precisam ser taxonomicamente redefinidos, já que os caracteres usados para separá-los se mostraram homoplásticos e insuficientes para sua definição.

O ramo seguinte (0.97) é formado por todas as outras 35 espécies que ocorrem no Hemisfério Sul, reconhecidas em sete gêneros (Fig. 13). Neste ramo, o gênero *Aplomera* aparece como uma linhagem parafilética enquanto *Atrichopleura*, *Deuteronista*, *Hilara*, *Hilarempis* e *Hilarigona* saem como polifiléticos e certamente precisam ser revisados taxonomicamente. Quatro das seis espécies de *Hilarigona*, do Chile e Argentina (*Hilarigona brachygastra*, *Hilarigona pudica*, *Hilarigona* sp. 1 e *Hilarigona* sp. 3), aparecem em um ramo com excelentes valores de suporte (100% de bootstrap e 1 de probabilidade posterior), mas as duas outras espécies, também do Chile, aparecem em outro clado, mais apical, tendo como grupo-irmão *Hilarempis facilis* da Argentina. Dentre as três espécies de *Deuteronista* incluídas, duas aparecem em um mesmo clado (100; 1), mas a outra espécie, *Deuteronista* sp. 3, aparece na base de um clado formado por espécies de *Hilara* e *Hilarempis* (Fig. 13). *Pasitrichotus* sp. aparece na base de um clado formado por duas espécies de *Hilara* (*Hilara* sp. 2 e *Hilara* sp. 4), mas com apenas uma espécie incluída, não é possível falar da monofilia do gênero. Os outros três gêneros, *Atrichopleura*, *Hilara* e *Hilarempis*, aparecem como polifiléticos: as cinco espécies de *Atrichopleura* aparecem em três cladogramas diferentes e próximas a espécies de outros gêneros, todos bem suportados; as nove espécies de *Hilara* que ocorrem no Hemisfério Sul aparecem em seis diferentes cladogramas, também bem suportados com espécies de outros gêneros; e as 10 espécies de *Hilarempis* saíram em três diferentes cladogramas, todos com mais de 0.9 de probabilidade posterior.

A composição de bases das sequências analisadas entre os dois genes utilizados mostra uma maior composição das bases A e T (Tabela 9).

5. DISCUSSÃO TAXONÔMICA

Os poucos trabalhos que utilizaram exemplares de Hilarini não o fizeram para testar a monofilia da tribo, mas de grupos mais elevados (família ou superfamília). Em todos, com dados morfológicos (como em Sinclair & Cumming, 2006 – Fig. 1) ou com moleculares (como em Moulton & Wiegmann, 2007 – Fig. 9), a tribo aparece como sendo monofilética, resultado aqui corroborado. Entretanto, nenhum dos estudos previamente realizados incluiu mais do que três gêneros de Hilarini (*Hilara* e *Hilarempis* no primeiro e *Deuteronista*, *Hilara* e *Hilarempis* no segundo) o que não foi suficiente para avaliar os relacionamentos entre os gêneros.

Os valores de bootstrap da análise de máxima verossimilhança e as probabilidades posteriores da análise de inferência bayesiana associados a cada um dos nós se mostraram similares na maioria dos ramos (Figs. 11-13) o que mostra alta solidez da nossa hipótese. Como já discutido no capítulo 1, segundo Huelsenbeck e Ronquist (2005), o valor das probabilidades posteriores é a única medida de suporte que mostra que um determinado clado está correto, dado o conjunto de dados e com a premissa de que as análises tenham sido realizadas com os parâmetros adequados, sendo que baixos valores de suporte para os clados também podem estar relacionados a eventos de rápida radiação dentro de linhagens (Whitfield & Kjer, 2008).

A seguir, os resultados obtidos para as oito linhagens da tribo Hilarini incluídas são discutidos.

5.1. *Aplomera* Macquart, 1838

Aplomera é um gênero com 16 espécies descritas, para Bolívia, Chile, Paraguai e Peru, sendo que a espécie-tipo do gênero, *Aplomera gayi* Macquart, é conhecida para o Chile. Todas as espécies do gênero foram descritas entre 1838 e 1933, sendo que cinco delas foram descritas originalmente em *Empis* (4) e *Hilara* (1) e transferidas mais tarde para *Aplomera*. Desde então, o único trabalho realizado para o gênero foi feito por Rafael (2001), onde duas espécies descritas por Macquart (1838) foram revisadas.

Nesta primeira filogenia que testou a monofilia dos gêneros de Hilarini aqui incluídos, *Aplomera* aparece como sendo parafilético, com uma espécie de *Hilara* (*Hilara* sp. 6) saindo no clado onde estão as espécies de *Aplomera* (Fig. 13). Morfologicamente, *Aplomera*, assim como *Empis* e a grande maioria dos outros gêneros de Hilarini, possui a veia R_{4+5} bifida, contudo o gênero tem sido tratado como proximamente relacionado a *Hilarigona*, pois os dois gêneros são os únicos da tribo com a tíbia posterior mais curta do que o respectivo fêmur, sendo este bastante intumescido. Segundo chaves de identificação usadas para os hilaríne neotropicais, *Aplomera* e *Hilarigona* são separados apenas pelo quão geniculada é a base da tíbia posterior (distintamente em *Hilarigona* e levemente em *Aplomera*). O que foi visto é que as espécies de *Aplomera* aparecem na base de um clado com espécies de ocorrência apenas no Hemisfério Sul, como grupo-irmão de vários gêneros de Hilarini (Fig. 13), mas não de *Hilarigona*, sem, portanto, um relacionamento próximo com este último, mostrando que o caráter acima evoluiu independentemente dentro da tribo e que mais caracteres devem ser usados para a sua separação.

5.2. *Atrichopleura* Bezzi, 1909

Atrichopleura, um gênero com ocorrência apenas no Hemisfério Sul, tem 26 espécies descritas, para a África do Sul, Argentina, Brasil, Chile, Equador, Nova Zelândia, Peru e Uruguai, sendo que a sua espécie-tipo é Neotropical e é registrada para o Peru (*Atrichopleura schnusei* Bezzi). É o único gênero de Hilarini que possui a veia R_{4+5} simples, caráter aqui mostrado como homoplástico e que apareceu independentemente dentro de múltiplas linhagens de Empidinae (ver capítulo 1). O filograma da figura 13 evidencia claramente esta hipótese, já que das cinco espécies de *Atrichopleura* incluídas, apenas duas (*Atrichopleura caudata* e *Atrichopleura* sp. 1) saíram em um mesmo ramo (95%; 0.99). As outras três espécies saíram em três diferentes clados, compartilhando alto suporte de ramos com outros gêneros: *Atrichopleura* sp. 3 com *Hilara* sp. 10, ambos da África do Sul (87; 0.99), *Atrichopleura* sp. 2 e *Hilarempis* sp. 6, ambos também da África do Sul (99; 1) e *Atrichopleura spinipes* com *Hilarigona* sp. 3, da Região Andina (72; 0.99) (Fig. 13). Tais resultados

mostram a polifilia de *Atrichopleura* e a necessidade de que mais caracteres sejam usados para a sua organização e diagnose, assim como para toda a subfamília.

5.3. *Deuteronista* Philippi, 1865

O gênero *Deuteronista* foi descrito em 1865 para receber uma espécie, *Deuteronista bicolor* Philippi (do Chile), e apenas 68 anos mais tarde é que Collin (1933), trabalhando com os Empidínae do Chile e Argentina, descreveu mais cinco espécies e transferiu outras duas espécies descritas previamente em outros gêneros (*Empis villosula* Bigot e *Phlebotena lutea* Bezzi) para *Deuteronista*. Deste então, nenhum trabalho tentou entender a posição sistemática ou os relacionamentos de *Deuteronista* com os outros gêneros de Hilarini. No presente trabalho, das três espécies incluídas, as duas da Argentina (*Deuteronista* sp. 1 e *Deuteronista* sp. 2) formaram um clado com excelente suporte (100; 1) e a espécie do Chile (*Deuteronista* sp. 3), mesma localidade da espécie-tipo, aparece na base de um clado formado por espécies de *Hilara* e *Hilarempis*. O gênero tem sido separado dos outros da tribo Hilarini por ser o único com cerdas na face dorsal da veia R₁ e vem sendo considerado próximo à *Pasitrichotus*, que possui cerdas na face dorsal de todas as veias. Morfologicamente, *Deuteronista* sp. 1 e *Deuteronista* sp. 3 parecem ser mais proximamente relacionadas, por isso é que um estudo morfológico de *Deuteronista* sp. 1 e *Deuteronista* sp. 2 deve ser feito para que se encontrem os caracteres morfológicos sinapomórficos que as unem e as separam de *Deuteronista* sp. 3. Como também, uma análise filogenética das oito espécies já descritas deve ser feita para que a monofilia do gênero seja melhor testada.

5.4. *Hilara* Meigen, 1822

Hilara, o maior gênero da tribo Hilarini, com 389 espécies reconhecidas em todas as regiões biogeográficas (exceto os pólos) tem a sua espécie-tipo, *H. maura* Fabricius, descrita para a Região Paleártica (Europa), onde é indubitavelmente mais diverso, com

mais de 60% das espécies descritas (239, Tabela 5). Muitos trabalhos foram publicados para o gênero até o início do século XX, tendo apenas 12% das espécies sido descritas nos últimos 20 anos. Diante do tamanho do grupo, torna-se difícil incluir um número desejável delas em uma análise filogenética e, provavelmente por conta da inviabilidade, nenhum trabalho até hoje testou a monofilia do gênero, sendo esta tentada ser inferida pela primeira vez no presente trabalho. Vinte e três espécies provenientes de oito países e cinco regiões biogeográficas foram incluídas (Tabela 6). Todas as espécies neárticas e paleárticas (localidade-tipo do gênero) aparecem em um único clado (99; 0.91; Fig. 13), mas por outro lado, as espécies neotropicais, australianas e afrotropicais aparecem em diferentes outros clados, formando grupos com espécies de *Hilarempis*, *Pasitrichotus* e *Thinempis* (Fig. 13). Este achado mostra que o caráter usado para identificação de *Hilara* e sua distinção de *Hilarempis* (a presença da veia Sc completa), é homoplástico e não é suficiente para diagnosticar o gênero. Nossos resultados sugerem que o gênero *Hilara* precisa de uma determinação mais adequada e é possível que algumas espécies deste gênero (especialmente as gonduânicas) sejam filogeneticamente relacionadas com outros membros. Neste caso, *Hilara s. st.* seria uma linhagem exclusivamente laurasiana, com umas poucas espécies tendo migrado para o sul (como *Hilara* sp. 3 e *Hilara* sp. 10).

5.5. *Hilarempis* Bezzi, 1905

Smith (1967, 1969) foi o último autor a trabalhar com o gênero *Hilarempis*, quando descreveu 27 espécies nos trabalhos de 1967 (5) e 1969 (22). Com 110 espécies atualmente reconhecidas, *Hilarempis* é o segundo maior gênero de Hilarini, tendo distribuição restrita ao Hemisfério Sul e sendo sua espécie-tipo, *Hilarempis nudifacies* Bezzi, registrada para o Peru. Dez espécies foram incluídas neste estudo, da África do Sul (2), Argentina (6), Austrália (1) e Costa Rica (1). Quatro espécies da Argentina formaram um clado, que também incluí *Atrichopleura spinipes* (100; 1; Fig. 13). Dentre as demais seis espécies, *Hilarempis facilis*, da Argentina, aparece na base de outras duas espécies de *Hilarigona*; *Hilarempis* sp. 1, também da Argentina, aparece com duas espécies de *Hilara*; *Hilarempis* sp. 5, da Costa Rica, na base de duas

espécies de *Deuteronista*; as duas espécies da África do Sul (*Hilarempis* sp. 6 e *Hilarempis* sp. 7), em um outro clado, com uma espécie de *Atrichopleura*, proveniente do mesmo país; e, por fim, a espécie australiana, *Hilarempis* sp. 4 saiu com *Hilara* sp. 5 do Brasil e outras espécies de *Hilarigona* do Chile.

Diante dos resultados vistos, fica claro que *Hilarempis* é polifilético e necessita ser revisado e redefinido, juntamente com os gêneros *Hilara* e *Hilarigona*, já que provavelmente algumas espécies de *Hilarempis* formariam grupos monofiléticos com espécies destes gêneros. Como já visto anteriormente, o gênero *Hilara* parece ser restrito ao Hemisfério Norte e, neste caso, muitas espécies desse gênero que ocorrem no Hemisfério Sul seriam provavelmente transferidas para *Hilarempis*.

5.6. *Hilarigona* Collin, 1933

Das seis espécies de *Hilarigona* incluídas em nossas análises, cinco do Chile e uma da Argentina, quatro (*Hilarigona brachygastra*, *Hilarigona pudica*, *Hilarigona* sp. 1 e *Hilarigona* sp. 3) aparecem em um ramo basal com excelente suporte (100; 1) e as outras duas (*Hilarigona obscuripennis* e *Hilarigona* sp. 2) em um ramo mais apical, também bem suportadas (98; 1; Fig. 13). A espécie-tipo do gênero, *Hilarigona argentata* (Philippi), tem registro para a Argentina e para o Chile, portanto, nossos resultados poderiam indicar que o gênero *Hilarigona* tem espécies que formam um grupo monofilético, o que precisa ser investigado através de um detalhado estudo taxonômico. O baixo número de caracteres que diagnosticam o gênero – que basicamente é definido por apresentar a tíbia posterior mais curta do que o respectivo fêmur e a base da mesma tíbia distintamente geniculada – deve ser a razão pela qual o gênero aparece como sendo polifilético em nossas análises. Com 25 espécies descritas para as regiões Neotropical, Andina e Oriental, *Hilarigona* parece ter distribuição em todo o Hemisfério Sul, assim como *Hilarempis*. Com a base filogenética fornecida, *Hilarigona* poderá ser melhor definido em estudos taxonômicos futuros, assim como a maioria dos gêneros na tribo Hilarini.

5.7. *Pasitrichotus* Collin, 1933

Collin (1933) foi praticamente o último autor a trabalhar com os representantes andinos da tribo Hilarini, onde *Pasitrichotus* e outros dois gêneros (*Hilarigona* e *Trichohilara*) foram descritos naquela ocasião. O monotípico gênero *Pasitrichotus* é definido por um único caráter: todas as veias da asa apresentam cerdas na face dorsal. O seu relacionamento com *Deuteronista* foi proposto por Collin (1933), por serem os únicos gêneros com cerdas presentes dorsalmente nas veias. Contudo, o gênero aparece proximamente relacionado à algumas espécies de *Hilara* provenientes da Austrália (Fig. 13), o que, mais uma vez, mostra o relacionamento entre os Empidinae destas duas regiões. Com uma única espécie incluída, não é possível falar da sua monofilia.

5.8. *Thinempis* Bickel, 1996

Thinempis foi o único gênero endêmico da Região Australiana incluído nas presentes análises. Tal região é riquíssima no que diz respeito à biodiversidade da tribo, com sete gêneros endêmicos (Tabela 5) e muitos ainda para serem descritos (Bickel, 1996). Infelizmente, pela falta de oportunidade para realização de coletas e obtenção de material, tais linhagens não puderam ser incluídas, mas tendo em vista que *Thinempis* aparece na base dos hilarínes do Hemisfério Sul em todas as análises realizadas (Figs. 13-15), seria esperado que os outros gêneros apresentassem o mesmo posicionamento. Nos três critérios de otimização utilizados, *Thinempis* aparece proximamente relacionado à *Hilara* sp. 7, do Equador, reafirmando a relação entre as regiões Neotropical e Australiana. Muitos autores têm dúvidas sobre o posicionamento filogenético de muitos gêneros de Hilarini australianos (Bickel, 1996, 2002, 2006; Plant, 1995), e nós ressaltamos que uma análise incluindo todas as outras linhagens deva ser realizada para que tal relacionamento possa ser esclarecido.

6. IMPLICAÇÕES BIOGEOGRÁFICAS

Assim como visto para a tribo Empidini (capítulo 1), os resultados para Hilarini mostraram o clássico relacionamento entre os grupos da América do Sul e da Austrália temperada. O primeiro ramo de Hilarini (Fig. 13) inclui duas espécies, uma do Equador e uma da Austrália, que aparecem como grupo-irmão de um segundo clado, formado por todas as outras espécies. Este clado apresenta dois ramos principais, um formado pelas espécies do Hemisfério Norte, com 99% de suporte de bootstrap e 0.91 de probabilidade posterior e o outro por todas as espécies do Hemisfério Sul, com 0.97 de probabilidade posterior. Tal topologia é uma evidência de que as linhagens irmãs presentes na América do Sul e na Austrália surgiram entre o Paleoceno (65 Ma) e o fim do Eoceno (35 Ma), seguido da separação da Austrália e Antártica, como já discutido no capítulo anterior. Portanto, as implicações biogeográficas sugeridas para a tribo Empidini podem ser consideradas para toda a subfamília (ver capítulo 1 para detalhes e referências).

7. CONCLUSÕES

Tendo em vista os resultados apresentados e discutidos, pode-se concluir que a tribo Hilarini é mais uma vez corroborada como uma linhagem monofilética, mostrada como tal em todos os critérios de otimização testados, apresentando alto suporte. Os gêneros *Aplomera* (parafilético) e *Hilarigona* (polifilético) não são linhagens próximas como se pensava. Os caracteres usados para separação de *Hilara* e *Hilarempis* (veia Sc completa ou incompleta), bem como para separação de *Aplomera* de *Hilarigona* (o quão geniculada é a base da tibia posterior), são homoplásticos e surgiram várias vezes dentro da tribo Hilarini. Diante disso, outros caracteres além destes devem ser sempre usados para que se obtenha uma segura identificação destes gêneros.

Hilara e *Hilarempis*, os maiores gêneros de Hilarini, são polifiléticos e provavelmente as espécies de *Hilara* do Hemisfério Sul serão futuramente realocadas em *Hilarempis*, tornando *Hilara* um gênero restrito às regiões Neártica e Paleártica, já que a espécie-tipo é paleártica e todas as espécies holárticas aparecem em um mesmo clado em nossas análises filogenéticas. A perda da veia R_{4+5} bifurcada, caráter usualmente utilizado para identificação do gênero *Atrichopleura*, apareceu independentemente dentro de múltiplas linhagens da subfamília Empidinae, o que torna este caráter inviável, se for utilizado como única fonte para identificação deste gênero e de outros de Empidinae. O gênero *Atrichopleura* deve ser reconsiderado e estudado levando em consideração os relacionamentos filogenéticos apresentados.

As porções um e dois do gene CAD foram as que melhor resolveram os relacionamentos entre os gêneros de Hilarini; já as porções três e quatro se mostraram mais eficazes para resolver os relacionamentos entre as espécies, especialmente de *Hilara* e *Hilarempis*, gêneros em que o número de espécies incluídas foi muito maior.

Muitos gêneros e alguns subgêneros atualmente reconhecidos são agora mostrados como sendo não-monofiléticos, e por esse motivo a atual classificação genérica de Hilarini terá que ser extensivamente revisada para refletir as relações evolutivas da tribo. Todas as linhagens de Hilarini devem receber especial atenção em estudos taxonômicos e filogenéticos futuros; deve-se buscar novos caracteres que

redefinam os grandes gêneros *Hilara* e *Hilarempis*, bem como linhagens menores, como *Atrichopleura*, *Deuteronista* e *Hilarigona*.

O relacionamento entre as regiões Neotropical-Andina e Australiana foi mais uma vez confirmado, com os resultados apresentados corroborando estudos previamente realizados.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bertone, M.A.; Courtney, G.W.; Wiegmann, B.M. 2008. Phylogenetics and temporal diversification of the earliest true flies (Insecta: Diptera) based on multiple nuclear genes. *Systematic Entomology*. 33, 668–687.
- Bezzi, M. 1905. Empididae neotropicae Musei Nationalis Hungarici. *Annales Musei Nationalis Hungarici*. 3, 424–460.
- Bezzi, M. 1909. Beiträge zur Kenntniss der südamerikanischen Dipteren-Fauna auf Grund der Sammlerergebnisse einer Reise in Chile, Peru und Bolivia, ausgeführt in den Jahren 1902-1904 von W. Schnuse. Fam. Empididae. *Nova Acta Academiae Caesareae Leopoldino-Carolinae Germanicae Naturae Curiosorum*. 91, 299–406.
- Bickel, D.J. 1996. *Thinempis*, a new genus from Australia and New Zealand (Diptera: Empididae), with notes on the tribal classification of the Empidinae. *Systematic Entomology*. 21, 115–128.
- Bickel, D.J. 1998. *Cunomyia*, a distinctive new hilarine fly genus from the Tasmanian World Heritage Area (Diptera: Empididae). *Papers and Proceedings of the Royal Society of Tasmania*. 132, 59–63.
- Bickel, D.J. 2002. *Bandella*, A New Hilarine Fly Genus from Australia (Diptera: Empididae). *Records of the Australian Museum*. Vol. 54, 323–324.
- Bickel, D.J. 2006. *Eugowra*, A New Hilarine Fly Genus from Australia (Diptera: Empididae). *Records of the Australian Museum*. Vol. 58, 119–124.
- Collin, J.E. 1928. New Zealand Empididae. *British Museum (Natural History)*, London, 110 pp.
- Collin, J.E. 1933. Empididae. Diptera of Patagonia and South Chile. 4, 1–334.
- Cumming, J.M. 1994. Sexual selection and the evolution of dance fly mating systems (Diptera: Empididae; Empidinae). *The Canadian Entomologist*. 126, 907–920.
- Curtis, J. 1826. *British Entomology*. Vol. 3. Privately printed, London, Pl. 99–146.
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., Vrijenhoek, R. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*. 3, 294–299.
- Gene Codes Corporation. 2009. Sequencher® version 4.9 sequence analysis software, Ann Arbor, MI USA <http://www.genecodes.com>.
- Huelsenbeck, J.P.; Ronquist, F. 2005. Bayesian analysis of molecular evolution using MrBayes. p. 1–53.
- Löwenberg-Neto, P.; de Carvalho, C.J.B. 2009. Areas of endemism and spatial diversification of the Muscidae (Insecta: Diptera) in the Andean and Neotropical regions. *Journal of Biogeography*. 36, 1750–1759.
- Macquart, J. 1838. Diptères exotiques nouveaux ou peu connus. *Mémoire de la Société des Sciences Agricoles et Arts de Lille*, (Suppl.). 1838, 121–323.
- Meigen, J.W. 1822. Systematische Beschreibung der bekannten europäischen zweiflügeligen Insekten. Dritter Theil. Schulz-Wundermann, Hamm, pp. 416.
- Morrone, J.J., 1994. Distributional patterns of species of Rhytirrhinini (Coleoptera: Curculionidae) and the historical relationships of the Andean provinces. *Global Ecology and Biogeography Letters*. 4, 188–194.
- Morrone, J.J., 2001. Biogeografía de América Latina y el Caribe. Zaragoza, *Manuales y*

Tesis SEA, nro. 3.

- Moulton, J.K.; Wiegmann, B.M. 2004. Evolution and phylogenetic utility of CAD (rudimentary) among Mesozoic-aged eremoneuran Diptera (Insecta). *Molecular Phylogeny and Evolution*. 31, 363–378.
- Moulton, J.K.; Wiegmann, B.M. 2007. The phylogenetic relationships of flies in the superfamily Empidoidea (Insecta: Diptera). *Molecular Phylogeny and Evolution*. 43, 701–713.
- Nihei, S.S.; de Carvalho, C.J.B. 2007. Systematics and biogeography of Polietina Schnabl & Dziedzicki (Diptera, Muscidae): Neotropical area relationships and Amazonia as a composite area. *Systematic Entomology*. 32, 260–275.
- Philippi, R. A. 1865. Aufzählung der chilenischen Dipteren. *Verh. zool.-bot. Ges. Wien*, Wien. 15, 595–782.
- Plant, A.R. 1995. A new genus of Empidinae (Diptera: Empididae) from New Zealand. *New Zealand Entomologist*, Vol. 18.
- Rafael, J.A. 2001. Redescritção de duas espécies neotropicais de Empididae (Diptera) descritas por Curran e revalidação do gênero *Prophyrochroa*. *Iheringia, Série Zoologia*. 90, 127–132.
- Rambaut, A. 2002. Sequence alignment editor, Version 2.0a11. Available as shareware from <<http://evolve.zoo.ox.ac.uk/index.html>>.
- Rambaut, A. 2009. Tree Figure Drawing Tool, Version 1.3.1. Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh, Reino Unido.
- Simon, C.; Frati, F.; Beckenbach, A.; Crespi, B.; Liu, H.; Flook, P. 1994. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Annals of the Entomological Society of America*. 87, 651–701.
- Sinclair, B.J.; Cumming, J.M. 2006. The morphology, higher-level phylogeny and classification of the Empidoidea. *Zootaxa*. 1180, 1–172.
- Smith, K.G.V. 1962. Studies on the Brazilian Empididae (Diptera). *Transactions of the Royal Entomological Society of London*. 114, 195–266.
- Smith, K.G.V. 1967. Family Empididae (Empidae, Hybotidae) [Part] 39. In: A Catalogue of the Diptera of the Americas south of the United States. São Paulo, Departamento de Zoologia, 67 pp.
- Smith, K.G. V. 1969. The Empididae of southern Africa (Diptera). *Annals of the Natal Museum*. 19, 1–342.
- Smith, K.G.V. 1989. Family Empididae. In Evenhuis, N.L. (Ed.), Catalog of the Diptera of the Australasian and Oceanian Regions. British Museum (Natural History), London, pp. 431–442.
- Trautwein, M.D.; Wiegmann, B.M.; Yeates, D.K. 2010. A multigene phylogeny of the fly superfamily Asiloidea (Insecta): Taxon sampling and additional genes reveal the sister-group to all higher flies (Cyclorrhapha). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 56, 918–930.
- Whitfield, J.B.; Kjer, K.M. 2008. Ancient rapid radiations of insects: challenges for phylogenetic analysis. *Annual Review of Entomology*. 53, 449–472.
- Wiegmann, B.M.; Trautwein, M.D.; Winkler, I.S.; Barr, N.B.; Kim, J.W.; Lambkin, C.; Bertone, M.A.; Cassel, B.K.; Bayless, K.M.; Heimberg, A.M.; Wheeler, B.M.; Peterson, K.J.; Pape, T.; Sinclair, B.J.; Skevington, J.H.; Blagoderov, V.; Caravas, J.; Kutty, S.N.; Schmidt-Ott, U.; Kampmeier, G.E.; Thompson, F.C.; Grimaldi, D.A.;

- Beckenbach, A.T.; Courtney, G.W.; Friedrich, M.; Meier, R.; Yeates, D.K. 2011. Episodic radiations in the fly tree of life. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, PNAS, Early Edition.
- Yeates, D.K.; Wiegmann, B.M.; Courtney, G.W.; Meier, R.; Lambkin, C.; Pape, T. 2007. Phylogeny and systematics of Diptera: Two decades of progress and prospects. *Zootaxa*. 1668, 565–590.
- Yang D.; Zhang K.; Yao G.; Zhang J. 2007. World Catalog of Empididae (Insecta: Diptera). *China Agricultural University Press*, Beijing, 599 pp.

Tabela 5: Número de espécies em cada gênero da tribo Hilarini para cada região biogeográfica. Yang *et al.* (2007) e número de espécies de cada gênero incluídas.

Gênero	Região						Total	Incluídos
	Afrotropical	Australiana	Neártica	Neotropical e Andina	Oriental	Paleártica		
<i>Afroempis</i>	1						1	0
<i>Allochrotus</i>				1			1	0
<i>Amictoides</i>				1			1	0
<i>Aplomera</i>				16			16	5
<i>Atrichopleura</i>	2	2		22			26	5
<i>Bandella</i>		9					9	0
<i>Cunomyia</i>		1					1	0
<i>Deuteronista</i>				8			8	3
<i>Eugowra</i>		3					3	0
<i>Gynatoma</i>		6					6	0
<i>Hilara</i>	15	20	36	20	59	239	389	23
<i>Hilarempis</i>	32	24		54			110	10
<i>Hilarigona</i>				23	2		25	6
<i>Hybomyia</i>		1					1	0
<i>Munburra</i>		1					1	0
<i>Pasitrichotus</i>				1			1	1
<i>Thinempis</i>		6					6	1
<i>Trichohilara</i>				1			1	0
Total	50	73	36	147	61	239	606	54

Tabela 6: Táxon, local de depósito do *voucher*, código do *voucher*, país de procedência e região biogeográfica correspondente aos 92 terminais utilizados. Abreviações: CNC: Canadian National Collection; DZUP: Coleção Pe. Jesus Santiago Moure do departamento de Zoologia da Universidade Federal do Paraná; INPA: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia; MZUSP: Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo; NCSU: North Carolina State University. Regiões biogeográficas: AFR: Afrotropical; AUS: Australiana; LNEA: leste-Neártica; LPAL: leste-Paleártica; NNEO: norte-Neotropical; ONEA: oeste-Neártica; ORI: Oriental; OPAL: oeste-Paleártica; SNEO: sul-Neotropical.

#	Táxon	Local do voucher	Código do voucher	Procedência	Região biogeográfica
	Trichopezinae (Brachystomatidae)				
1	<i>Hyperperacera nemoralis</i>	NCSU	hyper	Chile	SNEO
	Ocydromiinae (Hybotidae)				
2	<i>Oropezella</i> sp. 1	NCSU	mm107	Costa Rica	NNEO
3	<i>Oropezella</i> sp. 2	DZUP	mm001	Brasil	NNEO
	Incertae sedis (Empididae)				
4	<i>Hesperempis</i> sp.	NCSU	hesper	EUA	ONEA
5	<i>Hormopeza</i> sp.	NCSU	hormo	EUA	LNEA
6	<i>Iteaphila</i> sp.	NCSU	iteaphila	EUA	ONEA
7	<i>Oreogeton scopifer</i>	NCSU	oreog	EUA	ONEA
8	<i>Philetus</i> sp.	NCSU	phile	EUA	ONEA
	Empidinae (Empididae)				
	Empidini				
9	<i>Clinorhampha</i> sp. 1	NCSU	mm077	Argentina	SNEO
10	<i>Clinorhampha</i> sp. 2	NCSU	mm078	Austrália	AUS
11	<i>Clinorhampha</i> sp. 3	NCSU	cde031	Chile	SNEO
12	<i>Empidadelpha sobrina</i>	NCSU	empidad	Chile	SNEO
13	<i>Empis copiosa</i>	NCSU	cde025	Argentina	SNEO
14	<i>Empis fulvicollis</i>	NCSU	cde029	Argentina	SNEO
15	<i>Empis lateralis</i>	NCSU	cde026	Chile	SNEO
16	<i>Empis macrorrhyncha</i>	NCSU	cde027	Chile	SNEO
17	<i>Empis nigricolor</i>	NCSU	cde028	Chile	SNEO
18	<i>Empis (Coptophlebia) albinervis</i>	NCSU	cde002	França	OPAL
19	<i>Empis (Coptophlebia) leptomorion</i>	NCSU	cde076	Andorra	OPAL
20	<i>Empis vaginifer</i>	NCSU	emp101	EUA	LNEA
21	<i>Empis</i> sp.	NCSU	cde063	Austrália	AUS
22	<i>Lamprempis</i> sp.	INPA	mm066	Brasil	NNEO
23	<i>Macrostomus</i> sp. 1	DZUP	mm068	Brasil	NNEO
24	<i>Macrostomus</i> sp. 2	NCSU	macfg	Guiana Francesa	NNEO
25	<i>Macrostomus</i> sp. 3	NCSU	porph	Peru	NNEO
26	<i>Opeatocerata</i> sp.	NCSU	mm119	Costa Rica	NNEO
27	<i>Porphyrochroa</i> sp. 1	INPA	mm040	Brasil	NNEO
28	<i>Porphyrochroa</i> sp. 2	NCSU	mm102	Costa Rica	NNEO
29	<i>Porphyrochroa</i> sp. 3	CNC	mm097	Equador	NNEO
30	<i>Porphyrochroa</i> sp. 4	NCSU	rha130	Peru	NNEO
31	<i>Rhamphomyia (Amydroneura) erythrophthalma</i>	NCSU	cde011	França	OPAL
32	<i>Rhamphomyia (Holoclora) nigripennis</i>	NCSU	cde018	França	OPAL
33	<i>Rhamphomyia (Pararhamphomyia) barbata</i>	NCSU	cde101	França	OPAL

34	<i>Rhamphomyia (Pararhamphomyia) tibiella</i>	NCSU	cde074	França	OPAL
35	<i>Rhamphomyia (Ramphomyia) sp.</i>	NCSU	cde056	Coréia	LPAL
36	<i>Rhamphomyia interseta</i>	NCSU	cde041	Argentina	SNEO
37	<i>Sphicosa sp. 1</i>	NCSU	cde065	Austrália	AUS
38	<i>Sphicosa sp. 2</i>	NCSU	sphic	Chile	SNEO
Hilarini					
39	<i>Aplomera sp. 1</i>	NCSU	cde038	Argentina	SNEO
40	<i>Aplomera sp. 2</i>	NCSU	hiln104	Argentina	SNEO
41	<i>Aplomera sp. 3</i>	NCSU	mm016	Argentina	SNEO
42	<i>Aplomera sp. 4</i>	MZUSP	mm003	Brasil	NNEO
43	<i>Aplomera sp. 5</i>	NCSU	hiln105	Peru	NNEO
44	<i>Atrichopleura caudata</i>	NCSU	cde039	Argentina	SNEO
45	<i>Atrichopleura spinipes</i>	NCSU	cde040	Argentina	SNEO
46	<i>Atrichopleura sp. 1</i>	NCSU	mm021	Argentina	SNEO
47	<i>Atrichopleura sp. 2</i>	NCSU	mm031	África do Sul	AFR
48	<i>Atrichopleura sp. 3</i>	NCSU	mm017	África do Sul	AFR
49	<i>Deuteragonista sp. 1</i>	NCSU	mm048	Argentina	SNEO
50	<i>Deuteragonista sp. 2</i>	NCSU	mm085	Argentina	SNEO
51	<i>Deuteragonista sp. 3</i>	NCSU	mm084	Chile	SNEO
52	<i>Hilara armata</i>	NCSU	cde032	Argentina	SNEO
53	<i>Hilara obscura</i>	NCSU	higbr	Inglaterra	OPAL
54	<i>Hilara seriata</i>	NCSU	hiser	EUA	LNEA
55	<i>Hilara tristis</i>	NCSU	hiltr	EUA	LNEA
56	<i>Hilara sp. 1</i>	NCSU	mm010	Argentina	SNEO
57	<i>Hilara sp. 2</i>	NCSU	mm032	Austrália	AUS
58	<i>Hilara sp. 3</i>	NCSU	mm064	Austrália	AUS
59	<i>Hilara sp. 4</i>	NCSU	mm087	Austrália	AUS
60	<i>Hilara sp. 5</i>	MZUSP	mm009	Brasil	NNEO
61	<i>Hilara sp. 6</i>	MZUSP	mm002	Brasil	NNEO
62	<i>Hilara sp. 7</i>	NCSU	hiln102	Equador	NNEO
63	<i>Hilara sp. 8</i>	NCSU	mm165	Hungria	OPAL
64	<i>Hilara sp. 9</i>	NCSU	mm167	Hungria	OPAL
65	<i>Hilara sp. 10</i>	NCSU	mm011	África do Sul	AFR
66	<i>Hilara sp. 11</i>	NCSU	mm154	EUA	ONEA
67	<i>Hilara sp. 12</i>	NCSU	mm155	EUA	LNEA
68	<i>Hilara sp. 13</i>	NCSU	mm156	EUA	LNEA
69	<i>Hilara sp. 14</i>	NCSU	mm157	EUA	ONEA
70	<i>Hilara sp. 15</i>	NCSU	mm158	EUA	ONEA
71	<i>Hilara sp. 16</i>	NCSU	mm159	EUA	ONEA
72	<i>Hilara sp. 17</i>	NCSU	mm160	EUA	LNEA
73	<i>Hilara sp. 18</i>	NCSU	mm161	EUA	LNEA
74	<i>Hilara sp. 19</i>	NCSU	mm164	EUA	LNEA
75	<i>Hilarempis inops</i>	NCSU	hgub	Argentina	SNEO
76	<i>Hilarempis facilis</i>	NCSU	cde033	Argentina	SNEO
77	<i>Hilarempis notabilis</i>	NCSU	cde034	Argentina	SNEO
78	<i>Hilarempis sp. 1</i>	NCSU	mm014	Argentina	SNEO
79	<i>Hilarempis sp. 2</i>	NCSU	mm015	Argentina	SNEO
80	<i>Hilarempis sp. 3</i>	NCSU	mm086	Argentina	SNEO

81	<i>Hilarempis</i> sp. 4	NCSU	mm033	Austrália	AUS
82	<i>Hilarempis</i> sp. 5	NCSU	mm109	Costa Rica	NNEO
83	<i>Hilarempis</i> sp. 6	NCSU	mm012	África do Sul	AFR
84	<i>Hilarempis</i> sp. 7	NCSU	mm062	África do Sul	AFR
85	<i>Hilarigona brachygastra</i>	NCSU	cde036	Chile	SNEO
86	<i>Hilarigona obscuripennis</i>	NCSU	cde035	Chile	SNEO
87	<i>Hilarigona pudica</i>	NCSU	cde037	Chile	SNEO
88	<i>Hilarigona</i> sp. 1	NCSU	hiln101	Argentina	SNEO
89	<i>Hilarigona</i> sp. 2	NCSU	mm005	Chile	SNEO
90	<i>Hilarigona</i> sp. 3	NCSU	hilgna	Chile	SNEO
91	<i>Pasitrichotus</i> sp.	NCSU	mm089	Argentina	SNEO
92	<i>Thinempis</i> sp.	NCSU	cde103	Austrália	AUS

Tabela 7: Conjunto de iniciadores utilizados neste estudo para amplificar e sequenciar o gene COI e as quatro primeiras porções do gene CAD.

Gene	Primer	Referência	Sequência (5' to 3')
CAD 1	54F	M&W (2004)	GTN GTN TTY CAR ACN GGN ATG GT
	364R	M&W (2004)	TCN ACN GCR AAN CCR TGR TTY TG
	60F	desenhado	GAR GTN GTN TTY CAR ACN GGN AT
	405R	M&W (2004)	GCN GTR TGY TCN GGR TGR AAY TG
	320F	M&W (2004)	ATH TTY GGN ATY TGY YTG GGN CAY CA
	410R	desenhado	GGN CCN GCN GTR TGY TCN GGR TG
CAD 2	292F	desenhado	AGY AAT GGN CCN GGH GAT CC
	635R	desenhado	CCA CCY ART GAA AAK GCH GC
	318F	desenhado	CCA ATT TTT TGG NAT WTG YTT RGG
	640R	desenhado	CTD GCC ATS ACS GGR TAS CC
	338F	M&W (2004)	ATG AAR TAY GGY AAT CGT GGH CAY AA
	680R	M&W (2004)	AAN GCR TCN CGN ACM ACY TCR TAY TC
CAD 3	538F	desenhado	AAT CCN AAT ATW GCW CAN GT
	822R	desenhado	GAR CTN CCS ATA TTY TTR CT
	564F	desenhado	GTN GAR CAR GTN ATH AAA GC
	606F	desenhado	ATG GGH ACN CCR ATH CAR TC
	830R	desenhado	CAG GAA ACA GCT ATG ACT CSC CNA CAC TYT TCA T
	581F	M&W (2004)	GAN ACT GAR GAY MGR AAA ATM TTY GC
	581F2	M&W (2004)	GGW GGW CAA ACW GCW YTM AAY TGY GG
	843R	M&W (2004)	GCY TTY TGR AAN GCY TCY TCR AA
	843R2	M&W (2004)	TCN ACC ATW CKN ARW GCY TTY TGR AA
CAD 4	787F	M&W (2004)	GGD GTN ACN ACN GCN TGY TTY GAR CC
	1071R	desenhado	TCC ATN ACD ACY TCR AAD GA
	758F	desenhado	AGY AAA GCD ACH GGD TAT CC
	1103R	desenhado	ATC CAT NGC AAT RTT RTT YGG
	798F	desenhado	GAT TAY TGT GTD GTD AAR ATD CC
	1098R	M&W (2004)	TTN GGN AGY TGN CCN CCC AT
	1098Rb	desenhado	TTY GYY AAY TGN CCY CCS AT
	1490F	F <i>et al.</i> (1994)	GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G
COI	2198R	F <i>et al.</i> (1994)	TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA
	2191R	S <i>et al.</i> (1994)	CCC GGT AAA ATT AAA ATA TAA ACT TC
	1460F	S <i>et al.</i> (1994)	TAC AAT TTA TCG CCT AAA CTT CAG CC
	2329R	S <i>et al.</i> (1994)	ACT GTA AAT ATA TGA TGA GCT CA

*Desenhado: *primer* desenhado no presente estudo.

*F *et al.* (1994): *primer* publicado no trabalho de Folmer *et al.* (1994).

*M&W (2004): *primer* publicado no trabalho de Moulton e Wiegmann (2004).

*S *et al.* (1994): *primer* publicado no trabalho de Simon *et al.* (1994).

Tabela 8: Lista dos terminais incluídos nas análises moleculares (Hilarini e os grupos-externos) e respectivos números de acesso do GenBank (quando disponível). A presença de Y indica que o gene foi sequenciado para a espécie.

#	Taxon	GenBank #				
		CAD 1	CAD 2	CAD 3	CAD4	COI
	Trichopezinae (Brachystomatidae)					
1	<i>Hyperperacera nemoralis</i>	Y	DQ369294	Y	Y	Y
	Ocydromiinae (Hybotidae)					
2	<i>Oropezella</i> sp. 1	Y	Y	Y	Y	Y
3	<i>Oropezella</i> sp. 2	Y	Y			Y
	Incertae sedis (Empididae)					
4	<i>Hesperempis</i> sp.	Y	DQ369279	Y	Y	
5	<i>Hormopeza</i> sp.	Y	DQ369306	Y	Y	
6	<i>Iteaphila</i> sp.	Y	AY280685	Y	Y	
7	<i>Oreogeton scopifer</i>	Y	DQ369287	Y	Y	Y
8	<i>Philetus</i> sp.	Y	Y	Y		Y
	Empidinae (Empididae)					
	Empidini					
9	<i>Clinorhampha</i> sp. 1	Y	Y	Y		Y
10	<i>Clinorhampha</i> sp. 2	Y	Y	Y	Y	Y
11	<i>Clinorhampha</i> sp. 3	Y	Y	Y	Y	Y
12	<i>Empidadelpha sobrina</i>	Y	Y	Y	Y	Y
13	<i>Empis copiosa</i>	Y	Y	Y	Y	Y
14	<i>Empis fulvicollis</i>	Y	Y	Y	Y	Y
15	<i>Empis lateralis</i>	Y	Y	Y	Y	Y
16	<i>Empis macrorrhyncha</i>	Y	Y	Y	Y	Y
17	<i>Empis nigricolor</i>	Y	Y	Y	Y	Y
18	<i>Empis (Coptophlebia) albinervis</i>	Y	Y	Y	Y	Y
19	<i>Empis (Coptophlebia) leptomorion</i>	Y	Y	Y	Y	Y
20	<i>Empis vaginifer</i>	Y	Y	Y	Y	Y
21	<i>Empis</i> sp.	Y	Y	Y		Y
22	<i>Lampremis</i> sp.	Y	Y	Y	Y	Y
23	<i>Macrostomus</i> sp. 1	Y	Y			Y
24	<i>Macrostomus</i> sp. 2	Y	Y	Y	Y	Y
25	<i>Macrostomus</i> sp. 3	Y	Y	Y	Y	
26	<i>Opeatocerata</i> sp.	Y	Y	Y	Y	Y
27	<i>Porphyrochroa</i> sp. 1	Y	Y			Y
28	<i>Porphyrochroa</i> sp. 2	Y	Y			Y
29	<i>Porphyrochroa</i> sp. 3	Y	Y			Y
30	<i>Porphyrochroa</i> sp. 4	Y	Y	Y	Y	Y
31	<i>Rhamphomyia (Amydroneura) erythrophthalma</i>	Y	Y	Y	Y	Y
32	<i>Rhamphomyia (Holoclera) nigripennis</i>	Y	Y	Y	Y	Y
33	<i>Rhamphomyia (Pararhamphomyia) barbata</i>	Y	Y	Y	Y	Y

34	<i>Rhamphomyia (Pararhamphomyia) tibiella</i>	Y	Y	Y	Y	Y
35	<i>Rhamphomyia (Rhamphomyia) sp.</i>	Y	Y	Y	Y	Y
36	<i>Rhamphomyia interseta</i>	Y	Y	Y	Y	Y
37	<i>Sphicosa sp. 1</i>	Y		Y		Y
38	<i>Sphicosa sp. 2</i>	Y	Y	Y	Y	Y
	Hilarini					
39	<i>Aplomera sp. 1</i>	Y	Y	Y	Y	Y
40	<i>Aplomera sp. 2</i>	Y	Y	Y	Y	Y
41	<i>Aplomera sp. 3</i>	Y	Y	Y		Y
42	<i>Aplomera sp. 4</i>	Y		Y	Y	Y
43	<i>Aplomera sp. 5</i>	Y	Y	Y	Y	Y
44	<i>Atrichopleura caudata</i>	Y	Y	Y	Y	Y
45	<i>Atrichopleura spinipes</i>	Y	Y	Y	Y	Y
46	<i>Atrichopleura sp. 1</i>	Y	Y	Y	Y	Y
47	<i>Atrichopleura sp. 2</i>	Y	Y	Y	Y	Y
48	<i>Atrichopleura sp. 3</i>	Y	Y	Y	Y	Y
49	<i>Deuteronista sp. 1</i>	Y	Y		Y	Y
50	<i>Deuteronista sp. 2</i>	Y	Y	Y	Y	Y
51	<i>Deuteronista sp. 3</i>	Y	Y	Y	Y	Y
52	<i>Hilara armata</i>	Y	Y	Y	Y	Y
53	<i>Hilara obscura</i>	Y	Y	Y	Y	Y
54	<i>Hilara seriata</i>	Y	Y	Y	Y	Y
55	<i>Hilara tristis</i>	Y	Y	Y	Y	Y
56	<i>Hilara sp. 1</i>	Y	Y	Y	Y	Y
57	<i>Hilara sp. 2</i>	Y			Y	Y
58	<i>Hilara sp. 3</i>	Y	Y	Y	Y	Y
59	<i>Hilara sp. 4</i>	Y	Y		Y	Y
60	<i>Hilara sp. 5</i>	Y	Y	Y	Y	Y
61	<i>Hilara sp. 6</i>	Y	Y			Y
62	<i>Hilara sp. 7</i>	Y	Y	Y	Y	Y
63	<i>Hilara sp. 8</i>	Y	Y	Y	Y	Y
64	<i>Hilara sp. 9</i>		Y	Y	Y	Y
65	<i>Hilara sp. 10</i>	Y	Y	Y	Y	Y
66	<i>Hilara sp. 11</i>	Y	Y	Y	Y	Y
67	<i>Hilara sp. 12</i>	Y	Y	Y	Y	Y
68	<i>Hilara sp. 13</i>		Y	Y	Y	Y
69	<i>Hilara sp. 14</i>	Y	Y	Y	Y	Y
70	<i>Hilara sp. 15</i>	Y	Y	Y	Y	Y
71	<i>Hilara sp. 16</i>	Y	Y	Y	Y	Y
72	<i>Hilara sp. 17</i>	Y	Y			Y
73	<i>Hilara sp. 18</i>		Y	Y	Y	Y
74	<i>Hilara sp. 19</i>	Y	Y			Y
75	<i>Hilarempis inops</i>	Y	Y			Y
76	<i>Hilarempis facilis</i>	Y	Y	Y	Y	Y
77	<i>Hilarempis notabilis</i>	Y	Y	Y	Y	Y

78	<i>Hilarempis</i> sp. 1	Y	Y	Y	Y	Y
79	<i>Hilarempis</i> sp. 2	Y	Y	Y	Y	Y
80	<i>Hilarempis</i> sp. 3	Y		Y	Y	Y
81	<i>Hilarempis</i> sp. 4	Y		Y	Y	Y
82	<i>Hilarempis</i> sp. 5	Y	Y	Y	Y	Y
83	<i>Hilarempis</i> sp. 6	Y	Y	Y	Y	Y
84	<i>Hilarempis</i> sp. 7	Y	Y	Y	Y	Y
85	<i>Hilarigona brachygastera</i>	Y	Y	Y	Y	Y
86	<i>Hilarigona obscuripennis</i>	Y	Y	Y	Y	Y
87	<i>Hilarigona pudica</i>	Y	Y	Y	Y	Y
88	<i>Hilarigona</i> sp. 1	Y	Y	Y		Y
89	<i>Hilarigona</i> sp. 2	Y	Y	Y	Y	Y
90	<i>Hilarigona</i> sp. 3	Y	Y	Y	Y	
91	<i>Pasitrichotus</i> sp.	Y	Y	Y		Y
92	<i>Thinempis</i> sp.					Y

Tabela 9: Frequência das bases referentes a cada gene utilizado. A= adenina, C= citosina, G= guanina, T= timina. CAD= carbamoyl-phosphate synthetase-aspartate transcarbamoylase-dihydroorotase. COI= citocromo oxidase subunidade I. Dados gerados através do programa Paup*.

Gene	A (%)	C (%)	G (%)	T (%)
COI	0.29	0.17	0.16	0.38
CAD	0.35	0.14	0.20	0.31
COI+CAD	0.33	0.15	0.19	0.33

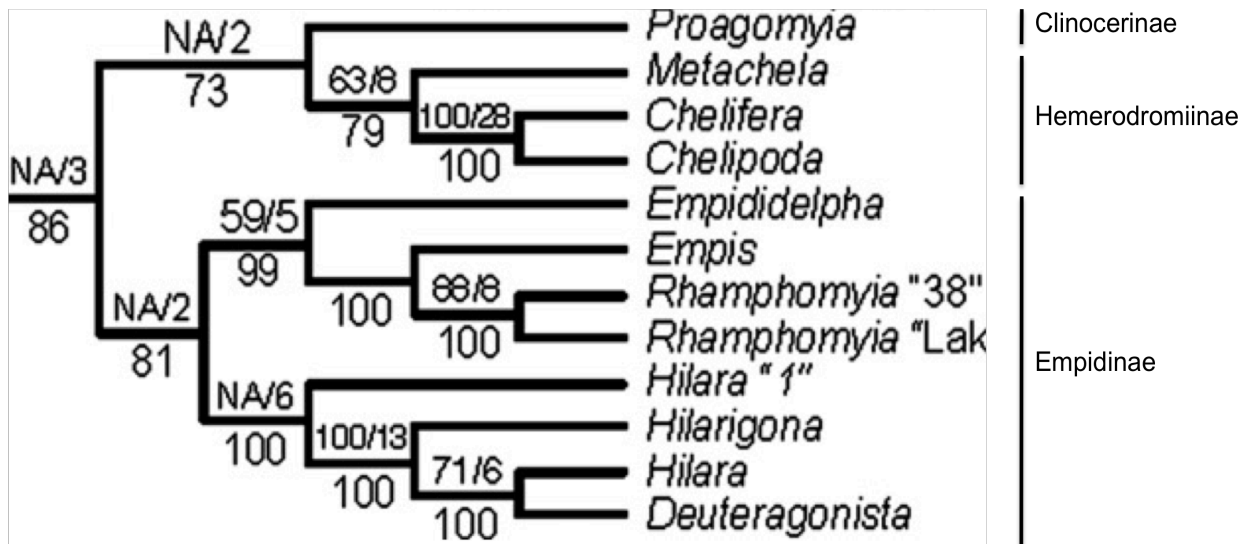


Figura 9: Porção de Empididae da árvore filogenética inferida a partir da primeira e a segunda posição do códon de seqüências de CAD usando o critério de máxima verossimilhança (de Moulton & Wiegmann, 2007). As tribos Empidini e Hilarini são mostradas como monofiléticas.



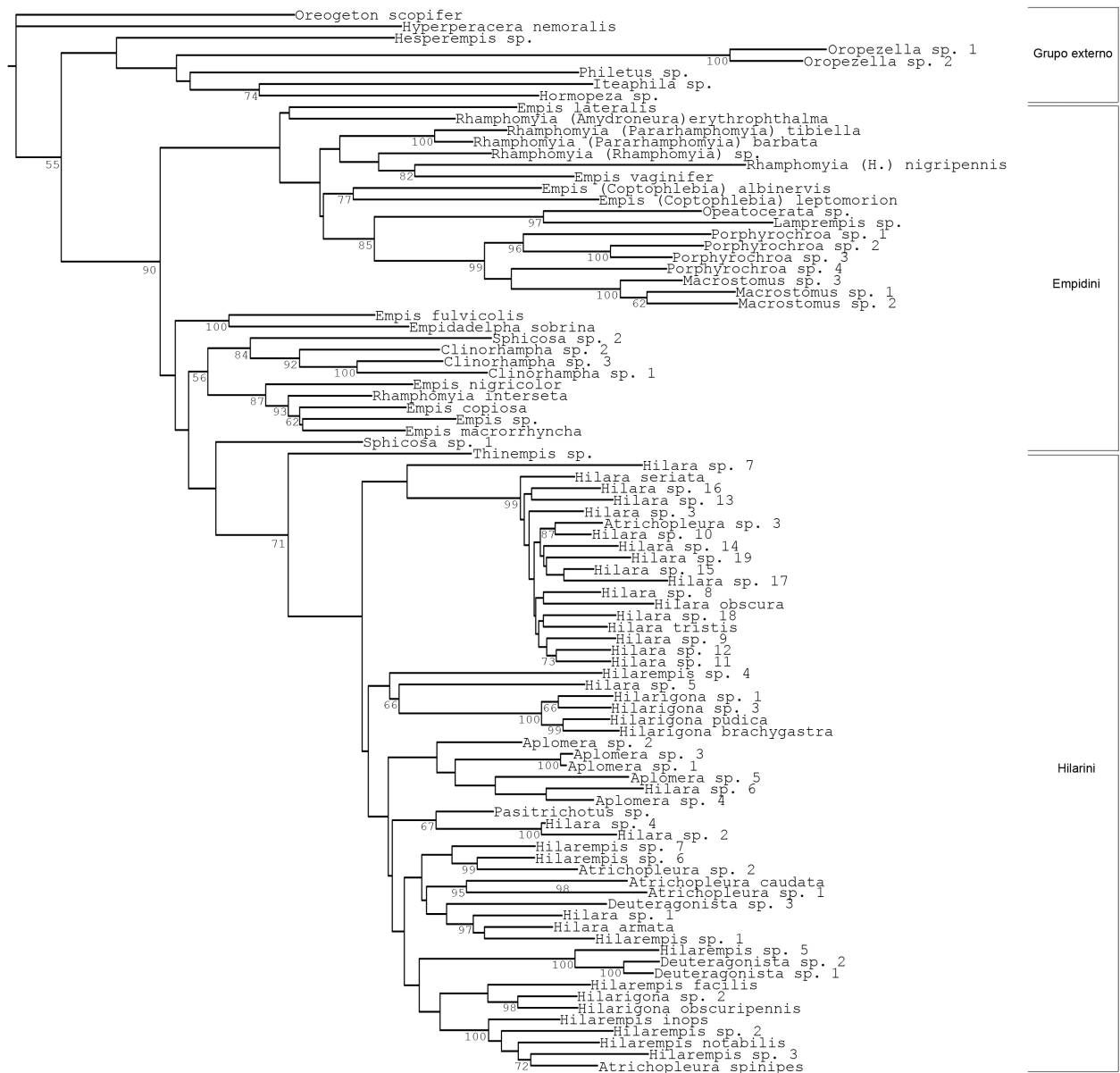


Figura 11: Filograma mostrando as relações de parentesco entre as espécies da tribo Hilarini e os grupos externos adicionados inferido pelo método de máxima verossimilhança (-lnL=83170.34352). Análise combinada das cinco partições estudadas, COI+CAD1+CAD2+CAD3+CAD4 (92 terminais, 3889 caracteres). Os valores de bootstrap de máxima verossimilhança acima de 50% estão indicados nos nós correspondentes. O modelo GTR+I+Γ foi o sugerido para a partição do gene CAD e o modelo HKY+I+Γ foi o sugerido para a partição do gene COI.

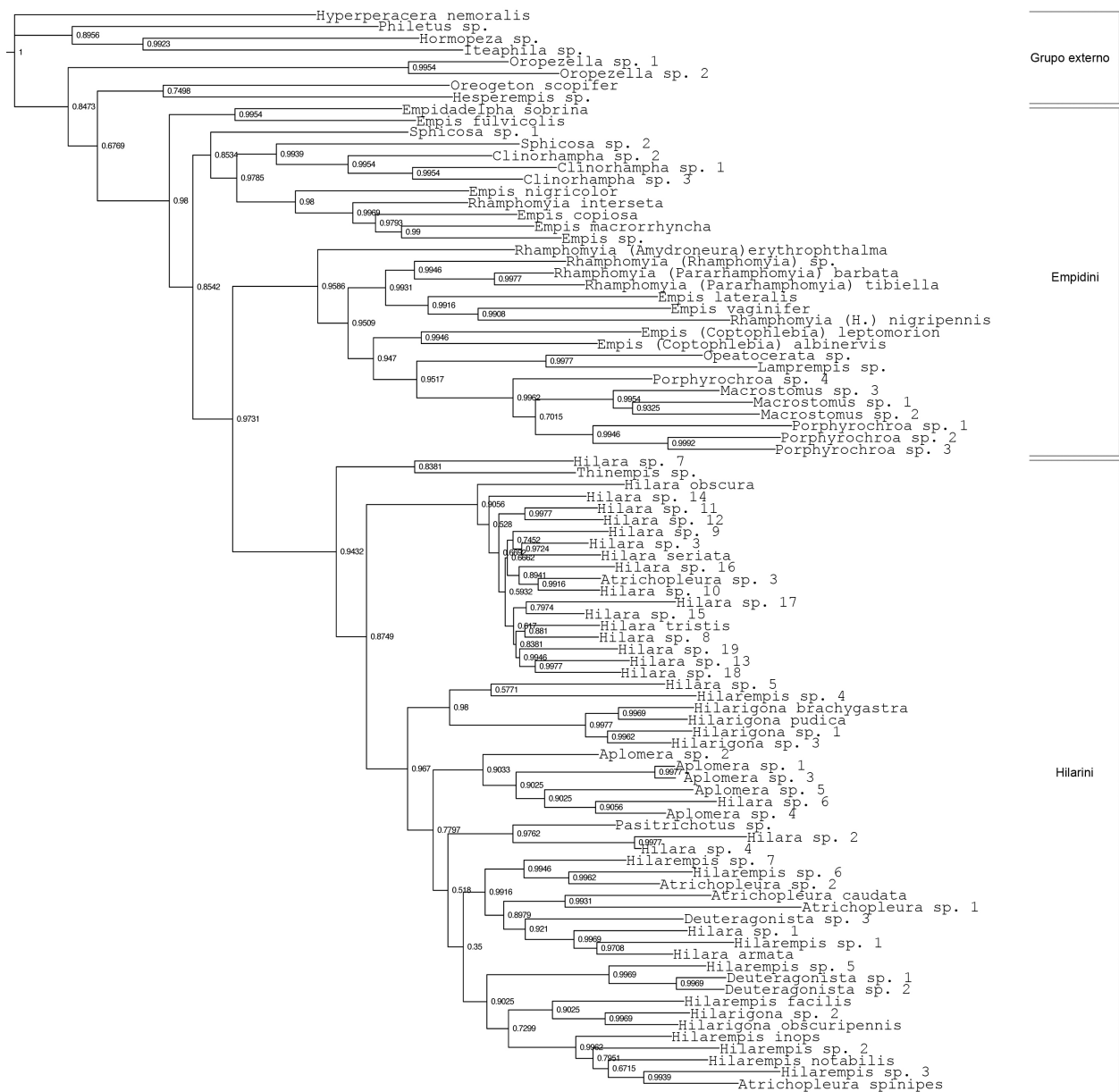


Figura 12: Filograma mostrando as relações de parentesco entre as espécies da tribo Hilarini e os grupos externos adicionados inferido pelo método de inferência bayesiana. Análise combinada das cinco partições estudadas, COI+CAD1+CAD2+CAD3+CAD4 (92 terminais e 3889 caracteres), Os valores das probabilidades posteriores associadas a cada clado estão representados na frente de cada nó. O modelo GTR+I+ Γ foi o sugerido para a partição do gene CAD e o modelo HKY+I+ Γ foi o sugerido para a partição do gene COI.

ANEXOS

Anexo 1: Dados de coleta para as espécies de Empidini, Hilarini e grupos-externos incluídas nos capítulos 1 e 2.

#	Táxon	Código do voucher	Dados de Coleta
	Trichopezinae (Brachystomatidae)		
1	<i>Hyperperacera nemoralis</i>	hyper	Chile (Chiloe Isld.)
	Ocydromiinae (Hybotidae)		
2	<i>Oropezella</i> sp. 1	mm107	Costa Rica, San Jose Prov., Perez Zeledon Cant., Talamanca Reserve NE of San Gerardo de Rivas, 9.468N, 83.591W, 31.vii.2010, B. Wiegmann et al.; E10-50
3	<i>Oropezella</i> sp. 2	mm001	BRASIL, PR, Guaratuba, Estrada dos Castelhanos, 25° 48' 43,8" S 48° 54' 39,9" W, 318m, Varredura, 12.i.2010, M. N. Mendonça col.
	Incertae sedis (Empididae)		
4	<i>Hesperempis</i> sp.	hesper	USA, Colorado
5	<i>Hormopeza</i> sp.	hormo	USA, Minnesota
6	<i>Iteaphila</i> sp.	iteaphila	USA, Utah
7	<i>Oreogeton scopifer</i>	oreog	USA, Nevada
8	<i>Philetus</i> sp.	phile	USA, Colorado, Lost Creek trail E. of Mt. Evans, 15-21.7.2003, I.S. Winkler
	Empidinae		
	Empidini		
9	<i>Clinorhampha</i> sp. 1	mm077	Argentina, Río Negro Prov. Nahuel Huapi Nat. Park, Rincon Chico, malaise near stream in Patagonian steppe 24-31.xii.2005, ME Irwin, 825m 40°59.25'S, 71°05.81'W
10	<i>Clinorhampha</i> sp. 2	mm078	Austrália_Andy Deans_2010
11	<i>Clinorhampha</i> sp. 3	cde031	Chile, 2007, C. Daugeron
12	<i>Empidadelpha sobrina</i>	empidad	Chile
13	<i>Empis (Anacrostichus)</i> sp.	cde052	Korea
14	<i>Empis (Coptophlebia) albinervis</i>	cde002	France, Brittany: La Cassiere, 18.06.2003, C. Daugeron
15	<i>Empis (Coptophlebia) leptomorion</i>	cde076	Andorra
16	<i>Empis (Coptophlebia)</i> sp. 1	cde048	Korea
17	<i>Empis (Coptophlebia)</i> sp. 2	copt	Madagascar
18	<i>Empis (Coptophlebia)</i> sp. 3	emp108	Zambia
19	<i>Empis (Coptophlebia)</i> sp. 4	emp109	Zambia
20	<i>Empis (Coptophlebia)</i> sp. 5	emp111	Zambia
21	<i>Empis (Empis) aestiva</i>	cde075	France
22	<i>Empis (Empis) chioptera</i>	cde020	France, Pyrenees, 2005, C. Daugeron
23	<i>Empis (Empis)</i>	cde009	France, Pyrenees , 13.6.2006, C. Daugeron

	<i>melanotricha</i>		
24	<i>Empis (Empis) nr. malleola 1</i>	cde046	Korea
25	<i>Empis (Empis) nr. malleola 2</i>	cde069	France
26	<i>Empis (Empis) nuntia</i>	cde064	France
27	<i>Empis (Empis) planetica</i>	cde068	France
28	<i>Empis (Empis) pennipes</i>	cde006	France, Brittany: Tombeau Merlin, 7.5.2003, C. Daugeron
29	<i>Empis (Empis) tanysphyra</i>	cde059	France
30	<i>Empis (Empis) sp. 1</i>	cde047	Korea
31	<i>Empis (Empis) sp. 2</i>	cde077	Congo
32	<i>Empis (Enoplempis) poplitea</i>	epop	USA, OR, Multnomah Co., Columbia Gorge Rec. Area, Wahkeena Falls, trail to Multnomah Falls, 45.576N, 122.128W, 7.vi.2009, I.S. Winkler; E09-54
33	<i>Empis (Kritempis) livida</i>	emp06	United Kingdom, GBR Bromley VII-05 BMW
34	<i>Empis (Lissemphis) sp.</i>	cde102	Russia
35	<i>Empis (Planempis) sp.</i>	cde044	Korea
36	<i>Empis (Polyblepharis) nr. crassa</i>	cde013	France, Pyrenees: Gedres, Granges de Bue, 12.7.2002, C. Daugeron
37	<i>Empis (Polyblepharis) sp.</i>	cde051	Korea
38	<i>Empis copiosa</i>	cde025	Argentina, 2005, C. Daugeron
39	<i>Empis fulvicollis</i>	cde029	Argentina, 2007, C. Daugeron
40	<i>Empis languescens</i>	empco	Argentina
41	<i>Empis lateralis</i>	cde026	Chile, 2007, C. Daugeron
42	<i>Empis leptogastra</i>	emp114	USA
43	<i>Empis macrorrhyncha</i>	cde027	Chile, 2007, C. Daugeron
44	<i>Empis nigricolor</i>	cde028	Chile, 2007, C. Daugeron
45	<i>Empis perpusilla</i>	cde024	Argentina, 2005, C. Daugeron
46	<i>Empis nr. recordabilis</i>	cde030	Chile, 2007, C. Daugeron
47	<i>Empis vaginifer</i>	emp101	USA, NY, Schuyler Co., Finger Lakes N.F., Burnt Hill Rd. nr. Bennettsburg, 42.449N, 76.811W, 15.v.2009, B.M. Wiegmann & I.S. Winkler; E09-33
48	<i>Empis sp. 1</i>	emca	Argentina
49	<i>Empis sp. 2</i>	cde063	Australia
50	<i>Empis sp. 3</i>	emp116	Bolivia
51	<i>Empis sp. 4</i>	emp117	Bolivia
52	<i>Empis sp. 5</i>	mm133	Costa Rica, Puntarenas Prov., Coto Brus Cant., Las Cruces Reserve, 2 mi. S. of San Vito, 8.785N, 82.959W, 6.viii.2010, at light, B. Wiegmann et al.; E10-59
53	<i>Empis sp. 6</i>	mm061	BRASIL, Amazonas, São Gabriel da Cachoeira, Parque Nacional Pico da Neblina, BR 307 Km 65, 22-29.iv.2009, armadilha suspensa amarela, Igarapé, Freitas-Silva, R.A.P. col.
54	<i>Empis sp. 7</i>	emp121	Chile
55	<i>Empis sp. 8</i>	mm108	Costa Rica, San Jose Prov., Perez Zeledon Cant., Talamanca Reserve NE of San Gerardo de Rivas, 9.468N, 83.591W, 31.vii.2010, B. Wiegmann et al.; E10-50

56	<i>Empis</i> sp. 9	mm118	Costa Rica, San Jose Prov., Perez Zeledon Cant., Talamanca Reserve NE of San Gerardo de Rivas, near river, 9.468N, 83.591W, 1.viii.2010, B. Wiegmann et al.; E10-52
57	<i>Empis</i> sp. 10	mm124	Costa Rica, Puntarenas Prov., Coto Brus Cant., Las Cruces Reserve, 2 mi. S. of San Vito, 8.785N, 82.959W, 5.viii.2010, B. Wiegmann et al.; E10-5
58	<i>Empis</i> sp. 11	mm132	Costa Rica, Puntarenas Prov., Coto Brus Cant., Las Cruces Reserve, 2 mi. S. of San Vito, 8.785N, 82.959W, 6.viii.2010, at light, B. Wiegmann et al.; E10-59
59	<i>Empis</i> sp. 12	mm137	Costa Rica, Prov. Alajuela. Guatuso. Cote. Fca. JosÈ MartÌnez. 478m. 15-30 NOV 2009. M. A. Zumbado, J. D. GutiÈrrez, I. LÙpez, E. Mendez, J. A. Azofeifa. Tp. Malaise. L_N_285508_443155 #98385
60	<i>Empis</i> sp. 13	mm139	Costa Rica, Prov. Alajuela. Guatuso. Fca. Justo Robles. 494m. 14-30 NOV 2009. M. A. Zumbado, J. D. GutiÈrrez, I. LÙpez, E. Mendez, J. A. Azofeifa. Tp. Malaise. L_N_285878_442244 #98386
61	<i>Empis</i> sp. 14	emp115	French Guiana
62	<i>Empis</i> sp. 15	emp118	French Guiana
63	<i>Empis</i> sp. 16	cde053	Korea
64	<i>Empis</i> sp. 17	cde055	Korea
65	<i>Empis</i> sp. 18	emp110	Mongolia
66	<i>Empis</i> sp. 19	emp119	Peru
67	<i>Empis</i> sp. 20	emp120	Peru
68	<i>Empis</i> sp. 21	emp107	USA
69	<i>Hystriehonotus revelator</i>	cde094	Chile
70	<i>Hystriehonotus</i> sp.	hystr	Argentina
71	<i>Lampremphis</i> sp. 1	mm066	Brasil, Amazonas, Manaus, Reserva Ducke, Igarapé Uberê, Armadilha Malaise 16.vi-21.vii.2003, J.M.F. Ribeiro, J. Vidal & Jailson Vidal col.
72	<i>Lampremphis</i> sp. 2	mm067	Brasil, Amazonas, Manaus, Reserva Ducke, Igarapé Uberê, Armadilha Malaise 16.vi-21.vii.2003, J.M.F. Ribeiro, J. Vidal & Jailson Vidal col.
73	<i>Lampremphis</i> sp. 3	mm121	Costa Rica, Puntarenas Prov., Coto Brus Cant., Las Cruces Reserve, 2 mi. S. of San Vito, 8.785N, 82.959W, 4.viii.2010, B. Wiegmann et al.; E10-57
74	<i>Lampremphis</i> sp. 4	mm135	Costa Rica, Puntarenas Prov., Coto Brus Cant., Las Cruces Reserve, 2 mi. S. of San Vito, 8.785N, 82.959W, 6.viii.2010, at light, B. Wiegmann et al.; E10-59
75	<i>Lampremphis</i> sp. 5	lamp	Peru
76	<i>Lampremphis</i> sp. 6	mm106	Peru [PF 12-01], San Martín Prov. 35 km N. Tarapoto, Bosque Pro-Tección Cord. Escalera, malaise In humid montane forest, 6-16.iii. 2005 ME Irwin, J.D. Vasquez 900m; 6°27.46'S, 76°17.24'W
77	<i>Lampremphis</i> sp. 7	cde096	Thailand
78	<i>Lampremphis</i> sp. 8	cde095	Vietnam
79	<i>Macrostomus</i> sp. 1	mm068	Brasil, Amazonas, Manaus, Reserva Ducke, Igarapé Barro Branco, Varredura, 14-19.xi.2009, M. N. Mendonça col.
80	<i>Macrostomus</i> sp. 2	mm147	Brasil, Amazonas, 2010, JA RAfael

81	<i>Macrostomus</i> sp. 3	mm148	Brasil, Amazonas, 2010, JA RAfael
82	<i>Macrostomus</i> sp. 4	mm112	Costa Rica, San Jose Prov., Perez Zeledon Cant., Talamanca Reserve NE of San Gerardo de Rivas, near river, 9.468N, 83.591W, 1.viii.2010, B. Wiegmann et al.; E10-52
83	<i>Macrostomus</i> sp. 5	mm105	Costa Rica, Cartago, Orosi: Tapantí National Park; 1250m; Hg vapor lamp nr. pk. Entrance leg. K. Bayless, 26-29.v.2006
84	<i>Macrostomus</i> sp. 6	macfg	French Guiana
85	<i>Macrostomus</i> sp. 7	porph	Peru
86	<i>Macrostomus</i> sp. 8	mm092	Peru [PF 12-01], San Martín Prov. 35 km N. Tarapoto, Bosque Pro-Tección Cord. Escalera, malaise In humid montane forest, 6-16.iii. 2005 ME Irwin, J.D. Vasquez 900m; 6°27.46'S, 76°17.24'W
87	<i>Macrostomus</i> sp. 9	mm093	Peru [PF 12-01], San Martín Prov. 35 km N. Tarapoto, Bosque Pro-Tección Cord. Escalera, malaise In humid montane forest, 6-16.iii. 2005 ME Irwin, J.D. Vasquez 900m; 6°27.46'S, 76°17.24'W
88	<i>Macrostomus</i> sp. 10	mm094	Peru [PF 12-01], San Martín Prov. 35 km N. Tarapoto, Bosque Pro-Tección Cord. Escalera, malaise In humid montane forest, 6-16.iii. 2005 ME Irwin, J.D. Vasquez 900m; 6°27.46'S, 76°17.24'W
89	<i>Opeatocerata</i> sp. 1	mm145	Brasil, Amazonas, 2010, JA RAfael
90	<i>Opeatocerata</i> sp. 2	mm119	Costa Rica, Puntarenas Prov., Coto Brus Cant., Las Cruces Reserve, 2 mi. S. of San Vito, 8.785N, 82.959W, 4.viii.2010, B. Wiegmann et al.; E10-57
91	<i>Porphyrochroa</i> sp. 1	mm040	Brasil, Amazonas, São Gabriel da Cachoeira, Parque Nacional Pico da Neblina, BR 307 Km 65, armadilha suspensa amarela, 1,5 m, mata, 22-29.iv.2009, Freitas-Silva, R.A.P. col.
92	<i>Porphyrochroa</i> sp. 2	mm042	Brasil, Minas Gerais, Botelhos, Córrego da Onça, 21° 40' 90" S 46° 22' 05" W, Malaise – mata, 21.ii-30.iii.2007, João Bosco col.
93	<i>Porphyrochroa</i> sp. 3	mm043	Brasil, Paraná, Guaratuba, Estrada dos Castelhanos, 25° 48' 43,8" S 48° 54' 39,9" W, 318m, Varredura, 12.i.2010, M. N. Mendonça col.
94	<i>Porphyrochroa</i> sp. 4	mm044	Brasil, Paraná, Tijucas do Sul, Associação dos Professores da UFPR (APUFPR), varredura represa, 835m, 12.i.2010, M.N.Mendonça col.
95	<i>Porphyrochroa</i> sp. 5	mm071	Brasil, Amazonas, São Gabriel da Cachoeira, Parque Nacional Pico da Neblina, BR 307 Km 65, 22-29.iv.2009, armadilha suspensa amarela, Igarapé, Freitas-Silva, R.A.P. col.
96	<i>Porphyrochroa</i> sp. 6	mm102	Costa Rica, Cacao, La Cima, Tranpa # 2 22.iii.1999
97	<i>Porphyrochroa</i> sp. 7	mm103	Costa Rica, Cacao, La Cima, Tranpa # 2 22.iii.1999
98	<i>Porphyrochroa</i> sp. 8	mm104	Costa Rica, Cartago, Orosi: Tapantí National Park; 1250m; Hg vapor lamp nr. pk. Entrance leg. K. Bayless, 26-29.v.2006
99	<i>Porphyrochroa</i> sp. 9	mm127	Costa Rica, Puntarenas Prov., Coto Brus Cant., Las Cruces Reserve, 2 mi. S. of San Vito, 8.785N, 82.959W, 5.viii.2010, B. Wiegmann et al.; E10-58
100	<i>Porphyrochroa</i> sp. 10	mm111	Costa Rica, San Jose Prov., Perez Zeledon Cant., Talamanca Reserve NE of San Gerardo de Rivas, near river, 9.468N, 83.591W, 1.viii.2010, B. Wiegmann

			et al.; E10-52
101	<i>Porphyrochroa</i> sp. 11	mm113	Costa Rica, San Jose Prov., Perez Zeledon Cant., Talamanca Reserve NE of San Gerardo de Rivas, near river, 9.468N, 83.591W, 1.viii.2010, B. Wiegmann et al.; E10-53
102	<i>Porphyrochroa</i> sp. 12	mm114	Costa Rica, San Jose Prov., Perez Zeledon Cant., Talamanca Reserve NE of San Gerardo de Rivas, near river, 9.468N, 83.591W, 1.viii.2010, B. Wiegmann et al.; E10-54
103	<i>Porphyrochroa</i> sp. 13	mm115	Costa Rica, San Jose Prov., Perez Zeledon Cant., Talamanca Reserve NE of San Gerardo de Rivas, near river, 9.468N, 83.591W, 1.viii.2010, B. Wiegmann et al.; E10-55
104	<i>Porphyrochroa</i> sp. 14	mm122	Costa Rica, Puntarenas Prov., Coto Brus Cant., Las Cruces Reserve, 2 mi. S. of San Vito, 8.785N, 82.959W, 4.viii.2010, B. Wiegmann et al.; E10-57
105	<i>Porphyrochroa</i> sp. 15	mm129	Costa Rica, Puntarenas Prov., Coto Brus Cant., Las Cruces Reserve, 2 mi. S. of San Vito, 8.785N, 82.959W, 5.viii.2010, B. Wiegmann et al.; E10-58
106	<i>Porphyrochroa</i> sp. 16	mm130	Costa Rica, Puntarenas Prov., Coto Brus Cant., Las Cruces Reserve, 2 mi. S. of San Vito, 8.785N, 82.959W, 5.viii.2010, B. Wiegmann et al.; E10-59
107	<i>Porphyrochroa</i> sp. 17	mm138	Costa Rica, Prov. Alajuela. Guatuso. Cote. Fca. JosÉ Martínez. 478m. 15-30 NOV 2009. M. A. Zumbado, J. D. Guti�rrez, I. López, E. Mendez, J. A. Azofeifa. Tp. Malaise. L_N_285508_443155 #98385
108	<i>Porphyrochroa</i> sp. 18	mm140	Costa Rica, Prov. Alajuela. Guatuso. Fca. Justo Robles. 494m. 14-30 NOV 2009. M. A. Zumbado, J. D. Guti�rrez, I. López, E. Mendez, J. A. Azofeifa. Tp. Malaise. L_N_285878_442244 #98386
109	<i>Porphyrochroa</i> sp. 19	mm142	Costa Rica, Prov. Alajuela. Guatuso. Cote. Fca. Justo Robles. 494m. 12-30 ENE 2010. J. A. Azofeifa, M. A. Zumbado. Tp. Malaise. L_N_285878_442244 #98715
110	<i>Porphyrochroa</i> sp. 20	mm144	Costa Rica. Prov. Alajuela. Guatuso. P.N. Volc�n Tenorio. Punto 1: Catarata Río Buenavista. 800m. 24 MAR 2010. J. A. Azofeifa, M. A. Zumbado. Tp. Malaise. L_N_298380_427850 #98772
111	<i>Porphyrochroa</i> sp. 21	mm097	Ecuador, Bellavista Cloud Forest Res., 9-13.5.2009
112	<i>Porphyrochroa</i> sp. 22	mm098	Ecuador, Bellavista Cloud Forest Res., 9-13.5.2009
113	<i>Porphyrochroa</i> sp. 23	mm099	Ecuador, Bellavista Cloud Forest Res., 9-13.5.2009
114	<i>Porphyrochroa</i> sp. 24	rha130	Peru
115	<i>Rhamphomyia</i> (<i>Aclonempis</i>) <i>longipes</i>	cde005	France, Brittany: La Cassiere, 18.06.2003, C. Daugeron
116	<i>Rhamphomyia</i> (<i>Actenempis</i>) <i>villosura</i>	actvi	France, Patuxent Wildlife Refuge, Central tract, 20-27.4.2006, S. Scheffer et al.
117	<i>Rhamphomyia</i> (<i>Alpinomyia</i>) sp.	cde016	France, Pyrenees, 2005, C. Daugeron
118	<i>Rhamphomyia</i> (<i>Amydroneura</i>) <i>erythrophthalma</i>	cde011	France, Pyrenees , 3.10.2006, C. Daugeron
119	<i>Rhamphomyia</i> (<i>Argyremphis</i>) sp. 1	cde097	Thailand
120	<i>Rhamphomyia</i>	arso	USA

	<i>(Argyremphis) sp. 2</i>		
121	<i>Rhamphomyia</i> (<i>Calorhamphomyia</i>) <i>compta</i>	cacom	USA, Patuxent Wildlife Refuge, Central tract, 20-27.4.2006, S. Scheffer et al.
122	<i>Rhamphomyia</i> (<i>Coloterthron</i>) <i>umbrosa</i>	rha106	USA, NY, Schuyler Co., Finger Lakes N.F., Burnt Hill Rd. nr. Bennettsburg, 42.434N, 76.817W, 15.v.2009, B.M. Wiegmann & I.S. Winkler; E09-32
123	<i>Rhamphomyia</i> (<i>Eorhamphomyia</i>) <i>scutellaris</i>	rha102	USA, CA, Sonoma Co., Annadale State Park, Lawnsdale trail, 38.411N, 122.580W, 3.iv.2009, I.S. Winkler; E09-07b
124	<i>Rhamphomyia</i> (<i>Holoclera</i>) <i>flaviventris</i>	cde062	France
125	<i>Rhamphomyia</i> (<i>Holoclera</i>) <i>nigripennis</i>	cde018	France, Pyrenees , 2005, C. Daugeron
126	<i>Rhamphomyia</i> (<i>Holoclera</i>) sp. 1	rha103	USA
127	<i>Rhamphomyia</i> (<i>Holoclera</i>) sp. 2	rha109	USA
128	<i>Rhamphomyia</i> (<i>Megacyttarus</i>) <i>crassirostris</i>	cde070	France
129	<i>Rhamphomyia</i> (<i>Megacyttarus</i>) sp.	cde100	Korea
130	<i>Rhamphomyia</i> (<i>Megandria</i>) <i>longicauda</i>	r4	USA, 23-28.5.2007, Justin Runyon
131	<i>Rhamphomyia</i> (<i>Orientomyia</i>) sp.	cde107	Japan
132	<i>Rhamphomyia</i> (<i>Pararhamphomyia</i>) <i>barbata</i>	cde101	France
133	<i>Rhamphomyia</i> (<i>Pararhamphomyia</i>) <i>marginata</i>	cde066	France
134	<i>Rhamphomyia</i> (<i>Pararhamphomyia</i>) nr. <i>ciliatopode-setosa</i>	cde050	Korea
135	<i>Rhamphomyia</i> (<i>Pararhamphomyia</i>) nr. <i>lamnifera</i>	cde045	Korea
136	<i>Rhamphomyia</i> (<i>Pararhamphomyia</i>) <i>tibiella</i>	cde074	France
137	<i>Rhamphomyia</i> (<i>Pararhamphomyia</i>) sp.	cde049	Korea
138	<i>Rhamphomyia</i> (<i>Ramphomyia</i>) sp.	cde056	Korea
139	<i>Rhamphomyia interseta</i>	cde041	Argentina, 2005, C. Daugeron
140	<i>Rhamphomyia</i> <i>nitidivittata</i>	xunit	USA, Patuxent Wildlife Refuge, Central tract , 8-15.5.2006, S. Scheffer et al.
141	<i>Rhamphomyia variabilis</i>	cde071	France
142	<i>Rhamphomyia</i> sp. 1	mm081	Argentina, Neuquen Prov. Pq. Nac. Lanín, 1.5 km N. Puerto Caroa, malaise in steppe bunchgrass, 25.xii.2005-2.i.2006 M.E. Irwin, 1010m, 39°44.02'S, 71°30.86'W
143	<i>Rhamphomyia</i> sp. 2	cde099	China
144	<i>Rhamphomyia</i> sp. 3	mm128	Costa Rica, Puntarenas Prov., Coto Brus Cant., Las Cruces Reserve, 2 mi. S. of San Vito, 8.785N, 82.959W, 5.viii.2010, B. Wiegmann et al.; E10-58

145	<i>Rhamphomyia</i> sp. 4	cde098	Japan
146	<i>Rhamphomyia</i> sp. 5	cde057	Korea
147	<i>Rhamphomyia</i> sp. 6	rha112	USA
148	<i>Sphicosa</i> sp. 1	cde065	Australia
149	<i>Sphicosa</i> sp. 2	sphic	Chile
	<i>Sphicosa</i> sp. 3	mm055	Brasil, Minas Gerais, Cabo Verde, Fazenda da Cata – 598 m, 21° 27' 11" S 46° 20' 52" W, Malaise – mata, 11.viii-13.x.2007 – Amorim, Oliveira & Capellari col.
150	Hilarini		
151	<i>Aplomera</i> sp. 1	cde038	Argentina, 2005, C. Daugeron
152	<i>Aplomera</i> sp. 2	hiln104	Argentina, 2 Km SE entrance to Los Alerces Nat. Park, 22-31.12.2005, M.E. Irwin
153	<i>Aplomera</i> sp. 3	mm016	Argentina, Neuquen Prov. Pq. Nac. Lanín, 1.5 km N. Puerto Caroa, malaise in steppe bunchgrass, 25.xii.2005-2.i.2006 M.E. Irwin, 1010m, 39°44.02'S, 71°30.86'W
154	<i>Aplomera</i> sp. 4	mm003	Brasil, Minas Gerais, Cabo Verde, Fazenda da Cata – 598 m, 21° 27' 11" S 46° 20' 52" W, Malaise – mata, 11.viii-13.x.2007 – Amorim, Oliveira & Capellari col.
155	<i>Aplomera</i> sp. 5	hiln105	Peru, [PF 12-01], 35 km N. Tarapoto, Bosque Protección Cord. Escalera, 6-16.3.2005, ME Irwin, J.D. Vasquez
156	<i>Atrichopleura caudata</i>	cde039	Argentina, 2005, C. Daugeron
157	<i>Atrichopleura spinipes</i>	cde040	Argentina, 2005, C. Daugeron
158	<i>Atrichopleura</i> sp. 1	mm021	Chile, Region IV, Limarí Prov., Fundo Agua Amarilla, 7 Km N. Los Vilos; malaise in stable dunes 28.xii.2003/8.i.2004; ME Irwin 58m; 31°50.96'S, 71°29.60'W
159	<i>Atrichopleura</i> sp. 2	mm031	8_South Africa
160	<i>Atrichopleura</i> sp. 3	mm017	South Africa, Western Cape; 6 Km SE Montagu; malaise in large canyon; 30.ix-22.x.2004; ME Irwin, FD Parker, M Hauser 400m; 33°49'59"S, 20°10'24"E
161	<i>Deuteronista</i> sp. 1	mm048	Argentina, Chubut Prov., 2 Km SE entrance to Los Alerces Nat. Park, malaise nr. Stream in Nothofagus Forest, 22-31.xii.2005, ME. Irwin, 590m, 42°59.30'S, 71°33.99'W
162	<i>Deuteronista</i> sp. 2	mm085	Argentina, Chubut Prov., Cholila, Stephen Bussey's property, malaise in steep gorge, 23-31.xii.2005, ME Irwin, 560m, 42°27.02'S, 71°27.0'W
163	<i>Deuteronista</i> sp. 3	mm084	Chile, Region IV, Limarí Prov., Fundo Agua Amarilla, 7 Km N. Los Vilos; malaise in stable dunes 28.xii.2003/8.i.2004; ME Irwin 58m; 31°50.96'S, 71°29.60'W
164	<i>Hilara armata</i>	cde032	Argentina, 2005, C. Daugeron
165	<i>Hilara obscura</i>	higbr	United Kingdom, Grt. Britain Bromley VI-05 BMW
166	<i>Hilara seriata</i>	hiser	USA, Patuxent Wildlife Refuge, Central tract, 27.4-5.5.2006, S. Scheffer et al.
167	<i>Hilara tristis</i>	hiltr	USA, Patuxent Wildlife Refuge, Central tract, 30.5-7.6.2006, S. Scheffer et al.
168	<i>Hilara</i> sp. 1	mm010	Argentina, Catamarca Province Trampasacha, 8Km W. Chumbicha Malaise in damp wash, 25.x/12.xi.2003; M.E. Irwin, F.D. Parker 650m; 28°49.97'S, 66°18.29'W
169	<i>Hilara</i> sp. 2	mm032	13_Australia

170	<i>Hilara</i> sp. 3	mm064	10_Australia
171	<i>Hilara</i> sp. 4	mm087	9_Australia
172	<i>Hilara</i> sp. 5	mm009	Brasil, Minas Gerais, Botelhos, Córrego da Onça, 21° 40' 90" S 46° 22' 05" W, Malaise – mata, 15.i-21.ii.2007 – João Bosco col.
173	<i>Hilara</i> sp. 6	mm002	Brasil, Minas Gerais, Cabo Verde, Fazenda da Cata – 598 m, 21° 27' 11" S 46° 20' 52" W, Varredura – mata, 11.viii-13.x.2007 – Amorim, Oliveira & Capellari col.
174	<i>Hilara</i> sp. 7	hiln102	Ecuador
175	<i>Hilara</i> sp. 8	mm165	Hungary
176	<i>Hilara</i> sp. 9	mm167	Hungary
177	<i>Hilara</i> sp. 10	mm011	Argentina, Río Negro Prov. Nahuel Huapi Nat. Park, Rincon Chico, malaise near stream in Patagonian steppe 24-31.xii.2005, ME Irwin, 825m 40°59.25'S, 71°05.81"W
178	<i>Hilara</i> sp. 11	mm154	USA, CA, Orange Co., Trabuco Cyn., Trabuco Creek Rd., at end of road, 33.683N, 117.504W, 6.iv.2009, I.S. Winkler & K.C. Collins; E09-11
179	<i>Hilara</i> sp. 12	mm155	USA, PA, McKean Co., State Rd. 321 E. of Allegany Reservoir, 41.813N, 78.869W, 13.v.2009, B.M. Wiegmann, I.S. Winkler; E09-27
180	<i>Hilara</i> sp. 13	mm156	USA, PA, Warren Co., CCC camp 13, 7km SW of Sheffield, 41.677N, 79.102W, 13.v.2009, B.M. Wiegmann & I.S. Winkler; E09-29
181	<i>Hilara</i> sp. 14	mm157	USA, CA, Trinity Co., Redding Cr. S. of Weaverville, 40.612N, 122.934W, 5.vi.2009, B.M. Wiegmann & I.S. Winkler et al.; E09-48
182	<i>Hilara</i> sp. 15	mm158	USA, OR, Coos Co., Hwy. 42 at Rock Cr., SE of Remote, 42.989N, 123.872W, 6.vi.2009, I.S. Winkler; E09-51
183	<i>Hilara</i> sp. 16	mm159	USA, ID, Shoshone Co., Saint Maries River S. of Grandfather Mt., 46.984N, 116.167W, 1000m, 10.vi.2009, I.S. Winkler; E09-65
184	<i>Hilara</i> sp. 17	mm160	USA, NC, McDowell Co., Pisgah N.F., Curtis Creek Cmpgd., ~ 5 mi. N of Old Fort, 35.685N, 82.200W, 551m, 7.vi.2010, I.S. Winkler et al.; E10-25
185	<i>Hilara</i> sp. 18	mm161	USA, NC, McDowell Co., Pisgah N.F., Curtis Creek Cmpgd., ~ 5 mi. N of Old Fort, 35.685N, 82.200W, 551m, 7.vi.2010, at light, I.S. Winkler et al.; E10-26
186	<i>Hilara</i> sp. 19	mm164	USA, MI, Ostego Co., Au Sable Tr., 1 mi. W of Waters, 44.877N, 84.721S, 402m, 13.vi.2010, I.S. Winkler et al.; E10-39
187	<i>Hilarempis inops</i>	hgub	Argentina, 2 Km SE entrance to Los Alerces Nat. Park, 22-31.12.2005, M.E. Irwin
188	<i>Hilarempis facilis</i>	cde033	Argentina, 2005, C. Daugeron
189	<i>Hilarempis notabilis</i>	cde034	Argentina, 2005, C. Daugeron
190	<i>Hilarempis</i> sp. 1	mm014	Argentina, Neuquen Prov. Pq. Nac. Lanín, 1.5 km N. Puerto Caroa, malaise in steppe bunchgrass, 25.xii.2005-2.i.2006 M.E. Irwin, 1010m, 39°44.02'S, 71°30.86'W
191	<i>Hilarempis</i> sp. 2	mm015	Argentina, Chubut Prov., Cholila, Stephen Bussey's property, malaise in steep gorge, 23-31.xii.2005, ME Irwin, 560m, 42°27.02'S, 71°27.0'W

192	<i>Hilarempis</i> sp. 3	mm086	Argentina, Neuquen Prov. Pq. Nac. Lanín, 1.5 km N. Puerto Caroa, malaise in steppe bunchgrass, 25.xii.2005-2.i.2006 M.E. Irwin, 1010m, 39°44.02'S, 71°30.86'W
193	<i>Hilarempis</i> sp. 4	mm033	12_Australia
194	<i>Hilarempis</i> sp. 5	mm109	Costa Rica, San Jose Prov., Perez Zeledon Cant., Talamanca Reserve NE of San Gerardo de Rivas, 9.468N, 83.591W, 31.vii.2010, at light, B. Wiegmann et al.; E10-51
195	<i>Hilarempis</i> sp. 6	mm012	South Africa, Western Cape Langeberg, Tradouws Pass, Groot Vaders Bosch, South Cape Boundary; malaise in meadow; 3.ix-22.x.2004; ME Irwin, FD Parker, M. Hauser 300m; 33°56'52"S, 20°42'26"E
196	<i>Hilarempis</i> sp. 7	mm062	South Africa, Western Cape 4 km S. Prince Albert, Swarthberg Mtns., malaise in wash with spring; 100m; 2-23.x.2004; ME Irwin, FD Parker, M Hauser, 33°16'00"S, 22°02'47"E
197	<i>Hilarigona brachygastra</i>	cde036	Chile, 2007, C. Daugeron
198	<i>Hilarigona obscuripennis</i>	cde035	Chile, 2007, C. Daugeron
199	<i>Hilarigona pudica</i>	cde037	Chile
200	<i>Hilarigona</i> sp. 1	hiln101	Argentina
201	<i>Hilarigona</i> sp. 2	mm005	Chile, Chiloé 1-30.i.2002, M. Barria
202	<i>Hilarigona</i> sp. 3	hilgna	Chile
203	<i>Pasitrichotus</i> sp.	mm089	Argentina, Chubut Prov., Cholila, Stephen Bussey's property, malaise in steep gorge, 23-31.xii.2005, ME Irwin, 560m, 42°27.02'S, 71°27.0'W
204	<i>Thinempis</i> sp.	cde103	Australia

Anexo 2: Matriz alinhada de caracteres usada para realização das análises do capítulo 1, incluindo 160 terminais e 3926 pares de bases provenientes das quatro porções do gene CAD (caracteres 1-3021), e do gene COI (caracteres 3022-3926).

Posições 1 - 150

[illegible]

Posições 751 - 900[illegible][illegible]

Empis (C.) leptomeron	ACTTTGGTGGTCAGACAGCTTAAATGTGGGTGGAATTAGACGCTGC AAAATTTTCGTAATAATATGTCGAATTATGGGTACCTCAATCAATCAATGATGGAACGTAAGATAGAAAATTTCTCGTAAGAGTTGTCGAGA
Empis (C.) sp. 1	ACTTTGGTGGTCAGACAGCTTAAATGTGGGTGGAATTAGACGCTGC AAAATTTTCGTAATAATATGTCGAATTATGGGTACCTCAATCAATCAATGATGGAACGTAAGATAGAAAATTTCTCGTAAGAGTTGTCGAGA
Empis (C.) sp. 2	ACGTTTGGTGGTCAACAGCTTAAATGTGGGTGGAATTAGACGCTGC AAAAATTTTCGTAATAATATGTCGAATTATGGGTACCTCAATCAATCAATGATGGAACGTAAGATAGAAAATTTCTCGTAAGAGTTGTCGAGA
Empis (C.) sp. 3	ACATTTTGGTGACAAACAGCTTAAATGTGGGTGGAATTAGACGCTGC AAAAATTTTCGTAATAATATGTCGAATTATGGGTACCTCAATCAATCAATGATGGAACGTAAGATAGAAAATTTCTCGTAAGAGTTGTCGAGA
Empis (C.) sp. 4	ACATTTTGGTGCAACAGCTTAAATGTGGGTGGAATTAGACGCTGC AAAAATTTTCGTAATAATATGTCGAATTATGGGTACCTCAATCAATCAATGATGGAACGTAAGATAGAAAATTTCTCGTAAGAGTTGTCGAGA
Empis (C.) sp. 5	ACATTTTGGTGCAACAGCTTAAATGTGGGTGGAATTAGACGCTGC AAAAATTTTCGTAATAATATGTCGAATTATGGGTACCTCAATCAATCAATGATGGAACGTAAGATAGAAAATTTCTCGTAAGAGTTGTCGAGA
Empis (Empis) aestiva	ACTTTTGGTGGTCAACAGCTTAAATGTGGGTGGAATTAGACGCTGC AAAAATTTTCGTAATAATATGTCGAATTATGGGTACCTCAATCAATCAATGATGGAACGTAAGATAGAAAATTTCTCGTAAGAGTTGTCGAGA
Empis (E.) chioptera	ACTTTTGGTGGTCAACAGCTTAAATGTGGGTGGAATTAGACGCTGC AAAAATTTTCGTAATAATATGTCGAATTATGGGTACCTCAATCAATCAATGATGGAACGTAAGATAGAAAATTTCTCGTAAGAGTTGTCGAGA
Empis (E.) melanotricha	ACTTTTGGTGGTCAACAGCTTAAATGTGGGTGGAATTAGACGCTGC AAAAATTTTCGTAATAATATGTCGAATTATGGGTACCTCAATCAATCAATGATGGAACGTAAGATAGAAAATTTCTCGTAAGAGTTGTCGAGA
Empis (E.) nr. malleola 1	-----
Empis (E.) nr. malleola 2	-----
Empis (E.) nuntia	ACTTTTGGCGGTCAACAGCTTAAATGTGGGTGGAATTAGACGCTGC AAAAATTTTCGTAATAATATGTCGAATTATGGGTACCTCAATCAATCAATGATGGAACGTAAGATAGAAAATTTCTCGTAAGAGTTGTCGAGA
Empis (E.) planetica	ACTTTTGGCGGTCAACAGCTTAAATGTGGGTGGAATTAGACGCTGC AAAAATTTTCGTAATAATATGTCGAATTATGGGTACCTCAATCAATCAATGATGGAACGTAAGATAGAAAATTTCTCGTAAGAGTTGTCGAGA
Empis (E.) pennipes	ACATTTTGGTGCAACAGCTTAAATGTGGGTGGAATTAGACGCTGC AAAAATTTTCGTAATAATATGTCGAATTATGGGTACCTCAATCAATCAATGATGGAACGTAAGATAGAAAATTTCTCGTAAGAGTTGTCGAGA
Empis (E.) tansphyra	ACATTTTGGTGCAACAGCTTAAATGTGGGTGGAATTAGACGCTGC AAAAATTTTCGTAATAATATGTCGAATTATGGGTACCTCAATCAATCAATGATGGAACGTAAGATAGAAAATTTCTCGTAAGAGTTGTCGAGA
Empis (E.) sp. 1	ACTTTTGGTGGTCAACAGCTTAAATGTGGGTGGAATTAGACGCTGC AAAAATTTTCGTAATAATATGTCGAATTATGGGTACCTCAATCAATCAATGATGGAACGTAAGATAGAAAATTTCTCGTAAGAGTTGTCGAGA
Empis (E.) sp. 2	ACTTTTGGTGGTCAACAGCTTAAATGTGGGTGGAATTAGACGCTGC AAAAATTTTCGTAATAATATGTCGAATTATGGGTACCTCAATCAATCAATGATGGAACGTAAGATAGAAAATTTCTCGTAAGAGTTGTCGAGA
Empis (Enoplemis) poplitea	ACGTTTGGTGGTCAACAGCTTAAATGTGGGTGGAATTAGACGCTGC AAAAATTTTCGTAATAATATGTCGAATTATGGGTACCTCAATCAATCAATGATGGAACGTAAGATAGAAAATTTCTCGTAAGAGTTGTCGAGA
Empis (Eriemipis) livida	ACGTTTGGTGGTCAACAGCTTAAATGTGGGTGGAATTAGACGCTGC AAAAATTTTCGTAATAATATGTCGAATTATGGGTACCTCAATCAATCAATGATGGAACGTAAGATAGAAAATTTCTCGTAAGAGTTGTCGAGA
Empis (Planemipis) sp.	ACGTTTGGTGGTCAACAGCTTAAATGTGGGTGGAATTAGACGCTGC AAAAATTTTCGTAATAATATGTCGAATTATGGGTACCTCAATCAATCAATGATGGAACGTAAGATAGAAAATTTCTCGTAAGAGTTGTCGAGA
Empis (Polyblepharis) nr. crassa	ACTTTTGGTGGTCAACAGCTTAAATGTGGGTGGAATTAGACGCTGC AAAAATTTTCGTAATAATATGTCGAATTATGGGTACCTCAATCAATCAATGATGGAACGTAAGATAGAAAATTTCTCGTAAGAGTTGTCGAGA
Empis (P.) sp.	ACTTTTGGTGGTCAACAGCTTAAATGTGGGTGGAATTAGACGCTGC AAAAATTTTCGTAATAATATGTCGAATTATGGGTACCTCAATCAATCAATGATGGAACGTAAGATAGAAAATTTCTCGTAAGAGTTGTCGAGA
Empis copiosa	ACTTTTGGTGGTCAACAGCTTAAATGTGGGTGGAATTAGACGCTGC AAAAATTTTCGTAATAATATGTCGAATTATGGGTACCTCAATCAATCAATGATGGAACGTAAGATAGAAAATTTCTCGTAAGAGTTGTCGAGA
Empis fulvicollis	ACTTTTGGAGGGCAACAGCTTAAATGTGGGTGGAATTAGACGCTGC AAAAATTTTCGTAATAATATGTCGAATTATGGGTACCTCAATCAATCAATGATGGAACGTAAGATAGAAAATTTCTCGTAAGAGTTGTCGAGA
Empis languensens	ACTTTTGGCGGCAACAGCTTAAATGTGGGTGGAATTAGACGCTGC AAAAATTTTCGTAATAATATGTCGAATTATGGGTACCTCAATCAATCAATGATGGAACGTAAGATAGAAAATTTCTCGTAAGAGTTGTCGAGA
Empis lateralis	ACTTTTGGTGGTCAACAGCTTAAATGTGGGTGGAATTAGACGCTGC AAAAATTTTCGTAATAATATGTCGAATTATGGGTACCTCAATCAATCAATGATGGAACGTAAGATAGAAAATTTCTCGTAAGAGTTGTCGAGA
Empis leptogastra	ACTTTTGGTGGTCAACAGCTTAAATGTGGGTGGAATTAGACGCTGC AAAAATTTTCGTAATAATATGTCGAATTATGGGTACCTCAATCAATCAATGATGGAACGTAAGATAGAAAATTTCTCGTAAGAGTTGTCGAGA
Empismacrorhyncha	ACTTTTGGGGAACAGCTTGAATGTGGGTGGAATTAGACGCTGC AAAAATTTTCGTAATAATATGTCGAATTATGGGTACCTCAATCAATCAATGATGGAACGTAAGATAGAAAATTTCTCGTAAGAGTTGTCGAGA
Empis nigricolor	ACTTTTGGTGGTCAACAGCTTAAATGTGGGTGGAATTAGACGCTGC AAAAATTTTCGTAATAATATGTCGAATTATGGGTACCTCAATCAATCAATGATGGAACGTAAGATAGAAAATTTCTCGTAAGAGTTGTCGAGA
Empis perpusilla	ACTTTTGGTGGTCAACAGCTTAAATGTGGGTGGAATTAGACGCTGC AAAAATTTTCGTAATAATATGTCGAATTATGGGTACCTCAATCAATCAATGATGGAACGTAAGATAGAAAATTTCTCGTAAGAGTTGTCGAGA
Empis nr. recordabilis	ACTTTTGGTGGTCAACAGCTTAAATGTGGGTGGAATTAGACGCTGC AAAAATTTTCGTAATAATATGTCGAATTATGGGTACCTCAATCAATCAATGATGGAACGTAAGATAGAAAATTTCTCGTAAGAGTTGTCGAGA
Empis vaginifer	ACTTTTGGTGGTCAACAGCTTAAATGTGGGTGGAATTAGACGCTGC AAAAATTTTCGTAATAATATGTCGAATTATGGGTACCTCAATCAATCAATGATGGAACGTAAGATAGAAAATTTCTCGTAAGAGTTGTCGAGA
Empis sp. 1	ACTTTTGGCGGCAACAGCTTGAATGTGGGTGGAATTAGACGCTGC AAAAATTTTCGTAATAATATGTCGAATTATGGGTACCTCAATCAATCAATGATGGAACGTAAGATAGAAAATTTCTCGTAAGAGTTGTCGAGA
Empis sp. 2	ACTTTTGGTGGTCAACAGCTTAAATGTGGGTGGAATTAGACGCTGC AAAAATTTTCGTAATAATATGTCGAATTATGGGTACCTCAATCAATCAATGATGGAACGTAAGATAGAAAATTTCTCGTAAGAGTTGTCGAGA
Empis sp. 3	ACTTTTGGTGGTCAACAGCTTAAATGTGGGTGGAATTAGACGCTGC AAAAATTTTCGTAATAATATGTCGAATTATGGGTACCTCAATCAATCAATGATGGAACGTAAGATAGAAAATTTCTCGTAAGAGTTGTCGAGA
Empis sp. 4	-----
Empis sp. 5	-----
Empis sp. 6	-----
Empis sp. 7	-----
Empis sp. 8	-----
Empis sp. 9	-----
Empis sp. 10	-----
Empis sp. 11	-----
Empis sp. 12	-----
Empis sp. 13	-----
Empis sp. 14	-----
Empis sp. 15	-----
Empis sp. 16	-----
Empis sp. 17	-----
Empis sp. 18	-----
Empis sp. 19	-----
Empis sp. 20	-----
Empis sp. 21	-----
Hystrichonotus revelator	-----
Hystrichonotus sp.	-----
Lampremis sp. 1	-----
Lampremis sp. 2	-----
Lampremis sp. 3	-----
Lampremis sp. 4	-----
Lampremis sp. 5	-----
Lampremis sp. 6	-----
Lampremis sp. 7	-----
Lampremis sp. 8	-----
Macroctonus sp. 1	-----
Macroctonus sp. 2	-----
Macroctonus sp. 3	-----
Macroctonus sp. 4	-----
Macroctonus sp. 5	-----
Macroctonus sp. 6	-----
Macroctonus sp. 7	-----
Macroctonus sp. 8	-----
Macroctonus sp. 9	-----
Macroctonus sp. 10	-----
Opeatocestra sp. 1	-----
Opeatocestra sp. 2	-----
Porphyrochroa sp. 1	-----
Porphyrochroa sp. 2	-----
Porphyrochroa sp. 3	-----
Porphyrochroa sp. 4	-----
Porphyrochroa sp. 5	-----
Porphyrochroa sp. 6	-----
Porphyrochroa sp. 7	-----
Porphyrochroa sp. 8	-----
Porphyrochroa sp. 9	-----
Porphyrochroa sp. 10	-----
Porphyrochroa sp. 11	-----
Porphyrochroa sp. 12	-----
Porphyrochroa sp. 13	-----
Porphyrochroa sp. 14	-----
Porphyrochroa sp. 15	-----
Porphyrochroa sp. 16	-----
Porphyrochroa sp. 17	-----
Porphyrochroa sp. 18	-----
Porphyrochroa sp. 19	-----
Porphyrochroa sp. 20	-----
Porphyrochroa sp. 21	-----
Porphyrochroa sp. 22	-----
Porphyrochroa sp. 23	-----
Porphyrochroa sp. 24	-----
Rhamphomyia (Acionemipis) longipes	-----
Rhamphomyia (Actenemipis) villourea	-----
Rhamphomyia (Alpinomyia) sp.	-----
Rhamphomyia (Amydronemipis) erythrophthalmis	-----
Rhamphomyia (Argyremipis) sp. 1	-----
Rhamphomyia (A.) sp. 2	-----
Rhamphomyia (Coliorhamphomyia) compta	-----
Rhamphomyia (Coloterhron) umbrosa	-----
Rhamphomyia (Eorhamphomyia) scutellaris	-----
Rhamphomyia (Moclocera) flaviventris	-----
Rhamphomyia (H.) nigripennis	-----
Rhamphomyia (H.) sp. 1	-----
Rhamphomyia (H.) sp. 2	-----
Rhamphomyia (Megacyrtarus) crassirostris	-----
Rhamphomyia (H.) sp.	-----
Rhamphomyia (Megandria) longicauda	-----
Rhamphomyia (Orionemipis) sp.	-----
Rhamphomyia (Pararhamphomyia) barbata	-----
Rhamphomyia (P.) marginata	-----
Rhamphomyia (P.) nr. ciliatopode-setosa	-----
Rhamphomyia (P.) nr. lamifera	-----
Rhamphomyia (P.) tibialia	-----
Rhamphomyia (P.) sp.	-----
Rhamphomyia (Rhamphomyia) sp.	-----
Rhamphomyia interseta	-----
Rhamphomyia nitidivittata	-----
Rhamphomyia variabilis	-----
Rhamphomyia sp. 1	-----
Rhamphomyia sp. 2	-----
Rhamphomyia sp. 3	-----
Rhamphomyia sp. 4	-----
Rhamphomyia sp. 5	-----
Rhamphomyia sp. 6	-----
Sphicosia sp. 1	-----
Sphicosia sp. 2	-----
Sphicosia sp. 3	-----

Posições 1951 - 2100[illegible]

Porphyrochroa sp. 9	-----
Porphyrochroa sp. 10	-----
Porphyrochroa sp. 11	-----
Porphyrochroa sp. 12	GATCATTATATAGTTTAAACAAAATCGATCAATGGTTTGTGAATAAAAGAAAATATTATGTAATTTTAAATCTTTAGAAATCACAGGAACAATTTAGATCACTTGCAGCATGCTACAGAGCAAAAATTTAGAGATTTCGTATAA
Porphyrochroa sp. 13	-----
Porphyrochroa sp. 14	-----
Porphyrochroa sp. 15	CAAAAATTGATAGTTAACTAAAATGATCCATGGTTTGTGAATAAAAGAAAATATTATGTAATCTTAAATCTACAGATCTCAAGGTAACAATCTGGAATCATGCTTTATATTGCAAGCTAAAAGCTTGGATTTCGTATAA
Porphyrochroa sp. 16	-----
Porphyrochroa sp. 17	-----
Porphyrochroa sp. 18	-----
Porphyrochroa sp. 19	-----
Porphyrochroa sp. 20	-----
Porphyrochroa sp. 21	-----
Porphyrochroa sp. 22	-----
Porphyrochroa sp. 23	-----
Porphyrochroa sp. 24	-----
Rhamphomyia (A.) sp. 2	GAAAAATTATATAAATTTAACTAAAATGATCCATGGTTTGTGAATAAAAGAAAATATTATGTAATTTTAAATCTGCTGGAATCTCAAGGTAAATATTTAAATCATGCAATGCTGTTACAGCGAAAAATCTAGGATTTCGTATAA
Rhamphomyia (Acionemyia) longipes	GAAAAGTTATAGTATTGACTAAAATGATCCATGGTTTGTGAATAAAAGAAAATATTATGTAATTTTAAATCTCTTGAATCACAGGTAAATATTAAATCAATCTATGACTTTTACAGCGAAAAATCTGGCCTTTCTGCATAA
Rhamphomyia (Actenomyia) villosa	GAAAAATTATAGTATTGACTAAAATGATCCATGGTTTGTGAATAAAAGAAAATATTATGTAATTTTAAATCTCTTGAATCACAGGTAAATATTGATGATCACTTCAAGCTTTTACAGCGAAAAATCTGGATTTCGTATAG
Rhamphomyia (Alpinomyia) sp.	-----
Rhamphomyia (Amydrenea) erythrophthalma	GAAAAATTATAGTATTGACTAAAATGATCCATGGTTTGTGAATAAAAGAAAATATTATGTAATTTTAAATCTCTAGATCACAGGTAAATATTGGAATCACTTCAAGCTTTTACAGCGAAAAATCTGGATTTCGTATAA
Rhamphomyia (Argyrenia) sp. 1	GAAAAATTATAGTATTGACTAAAATGATCCATGGTTTGTGAATAAAAGAAAATATTATGTAATTTTAAATCTCTGGAATCACAGGTAAATATTGGAATCACTTCAAGCTTTTACAGCGAAAAATCTGGATTTCGTATAA
Rhamphomyia (R.) sp. 2	GAAAAATTATAGTATTGACTAAAATGATCCATGGTTTGTGAATAAAAGAAAATATTATGTAATTTTAAATCTCTGGAATCACAGGTAAATATTGGAATCACTTCAAGCTTTTACAGCGAAAAATCTGGATTTCGTATAA
Rhamphomyia (Calorhamphomyia) compta	GAAAAATTATAGTATTGACTAAAATGATCCATGGTTTGTGAATAAAAGAAAATATTATGTAATTTTAAATCTCTGGAATCACAGGTAAATATTGGAATCACTTCAAGCTTTTACAGCGAAAAATCTGGATTTCGTATAA
Rhamphomyia (Coloterhron) umbrosa	GAAAAATTATAGTATTGACTAAAATGATCCATGGTTTGTGAATAAAAGAAAATATTATGTAATTTTAAATCTCTGGAATCACAGGTAAATATTGGAATCACTTCAAGCTTTTACAGCGAAAAATCTGGATTTCGTATAA
Rhamphomyia (Eorhamphomyia) scutellaris	GAAAAATTATAGTATTGACTAAAATGATCCATGGTTTGTGAATAAAAGAAAATATTATGTAATTTTAAATCTCTGGAATCACAGGTAAATATTGGAATCACTTCAAGCTTTTACAGCGAAAAATCTGGATTTCGTATAA
Rhamphomyia (Holoclera) flaviventris	GAAAAATTATAGTATTGACTAAAATGATCCATGGTTTGTGAATAAAAGAAAATATTATGTAATTTTAAATCTCTGGAATCACAGGTAAATATTGGAATCACTTCAAGCTTTTACAGCGAAAAATCTGGATTTCGTATAA
Rhamphomyia (H.) nigripennis	GAAAAATTATAGTATTGACTAAAATGATCCATGGTTTGTGAATAAAAGAAAATATTATGTAATTTTAAATCTCTGGAATCACAGGTAAATATTGGAATCACTTCAAGCTTTTACAGCGAAAAATCTGGATTTCGTATAA
Rhamphomyia (H.) sp. 1	GAAAAATTATAGTATTGACTAAAATGATCCATGGTTTGTGAATAAAAGAAAATATTATGTAATTTTAAATCTCTGGAATCACAGGTAAATATTGGAATCACTTCAAGCTTTTACAGCGAAAAATCTGGATTTCGTATAA
Rhamphomyia (H.) sp. 2	GAAAAATTATAGTATTGACTAAAATGATCCATGGTTTGTGAATAAAAGAAAATATTATGTAATTTTAAATCTCTGGAATCACAGGTAAATATTGGAATCACTTCAAGCTTTTACAGCGAAAAATCTGGATTTCGTATAA
Rhamphomyia (Megacyrtarus) crassirostris	GAAAAATTATAGTATTGACTAAAATGATCCATGGTTTGTGAATAAAAGAAAATATTATGTAATTTTAAATCTCTGGAATCACAGGTAAATATTGGAATCACTTCAAGCTTTTACAGCGAAAAATCTGGATTTCGTATAA
Rhamphomyia (H.) sp.	GAAAAATTATAGTATTGACTAAAATGATCCATGGTTTGTGAATAAAAGAAAATATTATGTAATTTTAAATCTCTGGAATCACAGGTAAATATTGGAATCACTTCAAGCTTTTACAGCGAAAAATCTGGATTTCGTATAA
Rhamphomyia (Megandria) longicauda	GAAAAATTATAGTATTGACTAAAATGATCCATGGTTTGTGAATAAAAGAAAATATTATGTAATTTTAAATCTCTGGAATCACAGGTAAATATTGGAATCACTTCAAGCTTTTACAGCGAAAAATCTGGATTTCGTATAA
Rhamphomyia (Orionomyia) sp.	GAAAAATTATAGTATTGACTAAAATGATCCATGGTTTGTGAATAAAAGAAAATATTATGTAATTTTAAATCTCTGGAATCACAGGTAAATATTGGAATCACTTCAAGCTTTTACAGCGAAAAATCTGGATTTCGTATAA
Rhamphomyia (Pararhamphomyia) barbata	GAAAAATTATAGTATTGACTAAAATGATCCATGGTTTGTGAATAAAAGAAAATATTATGTAATTTTAAATCTCTGGAATCACAGGTAAATATTGGAATCACTTCAAGCTTTTACAGCGAAAAATCTGGATTTCGTATAA
Rhamphomyia (P.) marginata	GAAAAATTATAGTATTGACTAAAATGATCCATGGTTTGTGAATAAAAGAAAATATTATGTAATTTTAAATCTCTGGAATCACAGGTAAATATTGGAATCACTTCAAGCTTTTACAGCGAAAAATCTGGATTTCGTATAA
Rhamphomyia (P.) nr. ciliatopode-setosa	GAAAAATTATAGTATTGACTAAAATGATCCATGGTTTGTGAATAAAAGAAAATATTATGTAATTTTAAATCTCTGGAATCACAGGTAAATATTGGAATCACTTCAAGCTTTTACAGCGAAAAATCTGGATTTCGTATAA
Rhamphomyia (P.) nr. lamiifera	GAAAAATTATAGTATTGACTAAAATGATCCATGGTTTGTGAATAAAAGAAAATATTATGTAATTTTAAATCTCTGGAATCACAGGTAAATATTGGAATCACTTCAAGCTTTTACAGCGAAAAATCTGGATTTCGTATAA
Rhamphomyia (P.) tibialia	GAAAAATTATAGTATTGACTAAAATGATCCATGGTTTGTGAATAAAAGAAAATATTATGTAATTTTAAATCTCTGGAATCACAGGTAAATATTGGAATCACTTCAAGCTTTTACAGCGAAAAATCTGGATTTCGTATAA
Rhamphomyia (P.) sp.	GAAAAATTATAGTATTGACTAAAATGATCCATGGTTTGTGAATAAAAGAAAATATTATGTAATTTTAAATCTCTGGAATCACAGGTAAATATTGGAATCACTTCAAGCTTTTACAGCGAAAAATCTGGATTTCGTATAA
Rhamphomyia luteicincta	GAAAAATTATAGTATTGACTAAAATGATCCATGGTTTGTGAATAAAAGAAAATATTATGTAATTTTAAATCTCTGGAATCACAGGTAAATATTGGAATCACTTCAAGCTTTTACAGCGAAAAATCTGGATTTCGTATAA
Rhamphomyia nitidivittata	GAAAAATTATAGTATTGACTAAAATGATCCATGGTTTGTGAATAAAAGAAAATATTATGTAATTTTAAATCTCTGGAATCACAGGTAAATATTGGAATCACTTCAAGCTTTTACAGCGAAAAATCTGGATTTCGTATAA
Rhamphomyia variabilis	GAAAAATTATAGTATTGACTAAAATGATCCATGGTTTGTGAATAAAAGAAAATATTATGTAATTTTAAATCTCTGGAATCACAGGTAAATATTGGAATCACTTCAAGCTTTTACAGCGAAAAATCTGGATTTCGTATAA
Rhamphomyia sp. 1	-----
Rhamphomyia sp. 2	-----
Rhamphomyia sp. 3	-----
Rhamphomyia sp. 4	-----
Rhamphomyia sp. 5	-----
Rhamphomyia sp. 6	-----
Sphicosia sp. 1	-----
Sphicosia sp. 2	-----
Sphicosia sp. 3	-----
	-----TGACAAA

Posições 2551 - 2700

Hyperbaeocera nemoralis	-----
Oreorella sp.	-----
Heupremia sp.	-----
Hormepesia sp.	-----
Itephilia sp.	-----
Oreogeton scopifer	-----
Philetus sp.	-----
Aplomera sp.	-----
Atricholeura sp.	-----
Hilara obscura	-----
Hilara seriata	-----
Hilara sp. 1	-----
Hilara sp. 2	-----
Hilara sp. 3	-----
Hilara sp. 4	-----
Hilarempis sp. 1	-----
Hilarempis sp. 2	-----
Hilarigona brachygastra	-----
Clinorhampha sp. 1	-----
Clinorhampha sp. 2	-----
Clinorhampha sp. 3	-----
Empidadelphina sobrina	-----
Empis (Anacrotis) sp.	-----
Empis (Coptophlebia) albivertis	-----
Empis (C.) leptomeron	-----
Empis (C.) sp. 1	-----
Empis (C.) sp. 2	-----
Empis (C.) sp. 3	-----
Empis (C.) sp. 4	-----
Empis (C.) sp. 5	-----
Empis (Empis) aestiva	-----
Empis (E.) chioptera	-----
Empis (E.) melanotricha	-----
Empis (E.) nr. malleola 1	-----
Empis (E.) nr. malleola 2	-----
Empis (E.) nuntia	-----
Empis (E.) planipennis	-----
Empis (E.) pennipes	-----
Empis (E.) tenophrya	-----
Empis (E.) sp. 1	-----
Empis (E.) sp. 2	-----
Empis (Enoplemis) poplitea	-----
Empis (Eriemphis) livida	-----
Empis (Lissemphis) sp.	-----
Empis (Planemphis) sp.	-----
Empis (Polybipharis) nr. crassa	-----
Empis (P.) sp.	-----
Empis copiosa	-----
Empis fulvicollis	-----
Empis languescens	-----
Empis lateralis	-----
Empis leptogastera	-----
Empismacrorhyncha	-----
Empis nigricolor	-----
Empis persipilla	-----
Empis nr. recordabilis	-----
Empis vaginifer	-----
Empis sp. 1	-----
Empis sp. 2	-----
Empis sp. 3	-----
Empis sp. 4	-----
Empis sp. 5	-----
Empis sp. 6	-----
Empis sp. 7	-----
Empis sp. 8	-----
Empis sp. 9	-----
Empis sp. 10	-----
Empis sp. 11	-----
Empis sp. 12	-----
Empis sp. 13	-----
Empis sp. 14	-----
Empis sp. 15	-----
Empis sp. 16	-----
Empis sp. 17	-----
Empis sp. 18	-----
Empis sp. 19	-----
Empis sp. 20	-----
Empis sp. 21	-----
Hystichonotus revelator	-----
Hystichonotus sp.	-----

Lampremis sp. 1	GCATTGCAACAGCAATTAAGAGCAGAGTCTAGTGGTCGTTCCCATCGTGAACAAATAGGTGTACACCTTTGTAAACAAATTGATATCTGTAGCTGGGAATGCCGAGCAGCAAAATTTATATCTTCACATAAATGGCCACA
Lampremis sp. 2	-----
Lampremis sp. 3	GCATTGCGCACTGCAATTAAGAGTACAGATTAGTGTTCGTAGTACCTCGTGACAACTTAGGTGTGTGCCATTGCTCAGCAAAATGATACGGTGTGGTGAATGCCGCAACACAAATTTATATCTTCACATAAATGGCCACA
Lampremis sp. 4	GCATTGCAACAGCAATTAAGAGCAGAGTTAGTGTTCGTAGTACCTCGTGACAACTTAGGTGTGTGCCATTGCTCAGCAAAATGATACGGTGTGGTGAATGCCGCAACACAAATTTATATCTTCACATAAATGGCCACA
Lampremis sp. 5	CAAAATTCCTAGCTGCTTAAGAGTACAGATTAGTGTTCGTAGTACCTCGTGACAACTTAGGTGTGTGCCATTGCTCAGCAAAATGATACGGTGTGGTGAATGCCGCAACACAAATTTATATCTTCACATAAATGGCCACA
Lampremis sp. 6	GCATTGCAACAGCAATTAAGAGTACAGATTAGTGTTCGTAGTACCTCGTGACAACTTAGGTGTGTGCCATTGCTCAGCAAAATGATACGGTGTGGTGAATGCCGCAACACAAATTTATATCTTCACATAAATGGCCACA
Lampremis sp. 7	GCATTGCGGCACTCAAAAGTACCAATTAGTGTTCGTAGTACCTCGTGACAACTTAGGTGTGTGCCATTGCTCAGCAAAATGATACGGTGTGGTGAATGCCGCAACACAAATTTATATCTTCACATAAATGGCCACA
Lampremis sp. 8	ACAATTGCAACAGCAATTAAGAGTACGATCTGGTGGTTCGTTCCCAACGGGACAAATAGGGGTACGCCATTGTTAAACAAATTGATATCTGTAGCTGGTGAATGCCGCAACACAAATTTATATCTTCACATAAATGGCCACA
Macrostomus sp. 1	GCATTGCAACAGCAATTAAGAGTACGATCTGGTGGTTCGTTCCCAACGGGACAAATAGGGGTACGCCATTGTTAAACAAATTGATATCTGTAGCTGGTGAATGCCGCAACACAAATTTATATCTTCACATAAATGGCCACA
Macrostomus sp. 2	-----
Macrostomus sp. 3	-----
Macrostomus sp. 4	-----
Macrostomus sp. 5	GCATTGCAACAGCAATTAAGAGTACGATCTGGTGGTTCGTTCCCAACGGGACAAATAGGGGTACGCCATTGTTAAACAAATTGATATCTGTAGCTGGTGAATGCCGCAACACAAATTTATATCTTCACATAAATGGCCACA
Macrostomus sp. 6	GCATTGCAACAGCAATTAAGAGTACGATCTGGTGGTTCGTTCCCAACGGGACAAATAGGGGTACGCCATTGTTAAACAAATTGATATCTGTAGCTGGTGAATGCCGCAACACAAATTTATATCTTCACATAAATGGCCACA
Macrostomus sp. 7	-----
Macrostomus sp. 8	-----
Macrostomus sp. 9	-----
Macrostomus sp. 10	-----
Opeatoceera sp. 1	GCATTGCAACAGCAATTAAGAGTACGATCTGGTGGTTCGTTCCCAACGGGACAAATAGGGGTACGCCATTGTTAAACAAATTGATATCTGTAGCTGGTGAATGCCGCAACACAAATTTATATCTTCACATAAATGGCCACA
Opeatoceera sp. 2	GCATTGCAACAGCAATTAAGAGTACGATCTGGTGGTTCGTTCCCAACGGGACAAATAGGGGTACGCCATTGTTAAACAAATTGATATCTGTAGCTGGTGAATGCCGCAACACAAATTTATATCTTCACATAAATGGCCACA
Porphyrochroa sp. 1	-----
Porphyrochroa sp. 2	-----
Porphyrochroa sp. 3	GCATTGCAACAGCAATTAAGAGTACGATCTGGTGGTTCGTTCCCAACGGGACAAATAGGGGTACGCCATTGTTAAACAAATTGATATCTGTAGCTGGTGAATGCCGCAACACAAATTTATATCTTCACATAAATGGCCACA
Porphyrochroa sp. 4	-----
Porphyrochroa sp. 5	-----
Porphyrochroa sp. 6	-----
Porphyrochroa sp. 7	-----
Porphyrochroa sp. 8	-----
Porphyrochroa sp. 9	-----
Porphyrochroa sp. 10	-----
Porphyrochroa sp. 11	-----
Porphyrochroa sp. 12	GCATTGCAACAGCAATTAAGAGTACGATCTGGTGGTTCGTTCCCAACGGGACAAATAGGGGTACGCCATTGTTAAACAAATTGATATCTGTAGCTGGTGAATGCCGCAACACAAATTTATATCTTCACATAAATGGCCACA
Porphyrochroa sp. 13	-----
Porphyrochroa sp. 14	GCATTGCGCACTGCAATTAAGAGTACGATCTGGTGGTTCGTTCCCAACGGGACAAATAGGGGTACGCCATTGCTCAGCAAAATGATACGGTGTGGTGAATGCCGCAACACAAATTTATATCTTCACATAAATGGCCACA
Porphyrochroa sp. 15	-----
Porphyrochroa sp. 16	-----
Porphyrochroa sp. 17	-----
Porphyrochroa sp. 18	GCATTGCAACAGCAATTAAGAGTACGATCTGGTGGTTCGTTCCCAACGGGACAAATAGGGGTACGCCATTGTTAAACAAATTGATATCTGTAGCTGGTGAATGCCGCAACACAAATTTATATCTTCACATAAATGGCCACA
Porphyrochroa sp. 19	-----
Porphyrochroa sp. 20	-----
Porphyrochroa sp. 21	-----
Porphyrochroa sp. 22	-----
Porphyrochroa sp. 23	-----
Porphyrochroa sp. 24	GCATTGCAACAGCAATTAAGAGTACGATCTGGTGGTTCGTTCCCAACGGGACAAATAGGGGTACGCCATTGTTAAACAAATTGATATCTGTAGCTGGTGAATGCCGCAACACAAATTTATATCTTCACATAAATGGCCACA
Rhamphomyia (Aclonemyia) longipes	GCATTGCAACAGCAATTAAGAGTACGATCTGGTGGTTCGTTCCCAACGGGACAAATAGGGGTACGCCATTGTTAAACAAATTGATATCTGTAGCTGGTGAATGCCGCAACACAAATTTATATCTTCACATAAATGGCCACA
Rhamphomyia (Actenomyia) villosura	GCATTGCAACAGCAATTAAGAGTACGATCTGGTGGTTCGTTCCCAACGGGACAAATAGGGGTACGCCATTGTTAAACAAATTGATATCTGTAGCTGGTGAATGCCGCAACACAAATTTATATCTTCACATAAATGGCCACA
Rhamphomyia (Alpinomyia) sp.	-----
Rhamphomyia (Amydrosia) erythrophthalma	GCATTGCAACAGCAATTAAGAGTACGATCTGGTGGTTCGTTCCCAACGGGACAAATAGGGGTACGCCATTGTTAAACAAATTGATATCTGTAGCTGGTGAATGCCGCAACACAAATTTATATCTTCACATAAATGGCCACA
Rhamphomyia (Aryremia) sp. 1	GCATTGCAACAGCAATTAAGAGTACGATCTGGTGGTTCGTTCCCAACGGGACAAATAGGGGTACGCCATTGTTAAACAAATTGATATCTGTAGCTGGTGAATGCCGCAACACAAATTTATATCTTCACATAAATGGCCACA
Rhamphomyia (A.) sp. 2	-----
Rhamphomyia (Calorhamphomyia) compta	GCATTGCAACAGCAATTAAGAGTACGATCTGGTGGTTCGTTCCCAACGGGACAAATAGGGGTACGCCATTGTTAAACAAATTGATATCTGTAGCTGGTGAATGCCGCAACACAAATTTATATCTTCACATAAATGGCCACA
Rhamphomyia (Coloterhron) umbrosa	-----
Rhamphomyia (Eorhamphomyia) scutellaris	-----
Rhamphomyia (Holoclera) flaviventris	-----
Rhamphomyia (H.) nigripennis	-----
Rhamphomyia (H.) sp. 1	-----
Rhamphomyia (H.) sp. 2	-----
Rhamphomyia (Hegacyrtarus) crassirostris	-----
Rhamphomyia (H.) sp. 1	-----
Rhamphomyia (Megandria) longicauda	-----
Rhamphomyia (Orhentomyia) sp.	-----
Rhamphomyia (Pararhamphomyia) barbata	-----
Rhamphomyia (P.) marginata	-----
Rhamphomyia (P.) nr. ciliatopode-setosa	-----
Rhamphomyia (P.) nr. lamifera	-----
Rhamphomyia (P.) tibialia	-----
Rhamphomyia (P.) sp.	-----
Rhamphomyia (Rhamphomyia) sp.	-----
Rhamphomyia interreta	-----
Rhamphomyia nitidivittata	-----
Rhamphomyia variabilis	-----
Rhamphomyia sp. 1	-----
Rhamphomyia sp. 2	-----
Rhamphomyia sp. 3	-----
Rhamphomyia sp. 4	-----
Rhamphomyia sp. 5	-----
Rhamphomyia sp. 6	-----
Sphicosia sp. 1	-----
Sphicosia sp. 2	GCATTGCAACAGCAATTAAGAGTACGATCTGGTGGTTCGTTCCCAACGGGACAAATAGGGGTACGCCATTGTTAAACAAATTGATATCTGTAGCTGGTGAATGCCGCAACACAAATTTATATCTTCACATAAATGGCCACA
Sphicosia sp. 3	GCATTGCAACAGCAATTAAGAGTACGATCTGGTGGTTCGTTCCCAACGGGACAAATAGGGGTACGCCATTGTTAAACAAATTGATATCTGTAGCTGGTGAATGCCGCAACACAAATTTATATCTTCACATAAATGGCCACA

Posigies 2701 - 2850

Hyperperacera nemoralis	ACACATGACATGTAATTCGCGAGAAATTTACAATGTGCTGGTTCGAGTGTCTATCGATTGGATCTTCGTGGGAATTTGATGGTGTGCTGTGGTGGTCTCGGAGAACTCGAAATTTAGAGCGCCAAACATTTATGATTAATATAC
Oreopsella sp.	CTCATGATGATGTTTTCGGAATAATTTACAATGTGCTGGTTCGAGTGTCTATCGATTGGATCTTCGTGGGAATTTGATGGTGTGCTGTGGTGGTCTCGGAGAACTCGAAATTTAGAGCGCCAAACATTTATGATTAATATAC
Hyperemipis sp.	ACCAATGACATGTAATTCGCGAGAAATTTACAATGTGCTGGTTCGAGTGTCTATCGATTGGATCTTCGTGGGAATTTGATGGTGTGCTGTGGTGGTCTCGGAGAACTCGAAATTTAGAGCGCCAAACATTTATGATTAATATAC
Normopemipis sp.	ACCAATGATTTGGAATTCGCGAGAAATTTACAATGTGCTGGTTCGAGTGTCTATCGATTGGATCTTCGTGGGAATTTGATGGTGTGCTGTGGTGGTCTCGGAGAACTCGAAATTTAGAGCGCCAAACATTTATGATTAATATAC
Iteaphila sp.	ACCAATGATTTGGAATTCGCGAGAAATTTACAATGTGCTGGTTCGAGTGTCTATCGATTGGATCTTCGTGGGAATTTGATGGTGTGCTGTGGTGGTCTCGGAGAACTCGAAATTTAGAGCGCCAAACATTTATGATTAATATAC
Oreopeton scopifer	ACTCATGATGATCAATTTCCCGGAGAAATTTACAATGTGCTGGTTCGAGTGTCTATCGATTGGATCTTCGTGGGAATTTGATGGTGTGCTGTGGTGGTCTCGGAGAACTCGAAATTTAGAGCGCCAAACATTTATGATTAATATAC
Philetus sp.	-----
Aplomera sp.	AAAAATGATAGAAATTCGCGAGAAATTTACAATGTGCTGGTTCGAGTGTCTATCGATTGGATCTTCGTGGGAATTTGATGGTGTGCTGTGGTGGTCTCGGAGAACTCGAAATTTAGAGCGCCAAACATTTATGATTAATATAC
Atricholepura sp.	ATGCAATGACATGTAATTTCCCGGAGAAATTTACAATGTGCTGGTTCGAGTGTCTATCGATTGGATCTTCGTGGGAATTTGATGGTGTGCTGTGGTGGTCTCGGAGAACTCGAAATTTAGAGCGCCAAACATTTATGATTAATATAC
Hilara obscura	ACCGATGATGATTAATTTCCCGAGAAATTTACAATGTGCTGGTTCGAGTGTCTATCGATTGGATCTTCGTGGGAATTTGATGGTGTGCTGTGGTGGTCTCGGAGAACTCGAAATTTAGAGCGCCAAACATTTATGATTAATATAC
Hilara seriata	ACCGATGATGATTAATTTCCCGAGAAATTTACAATGTGCTGGTTCGAGTGTCTATCGATTGGATCTTCGTGGGAATTTGATGGTGTGCTGTGGTGGTCTCGGAGAACTCGAAATTTAGAGCGCCAAACATTTATGATTAATATAC
Hilara sp. 1	GCACATGACATGAAATTTCCGAGAAATTTACAATGTGCTGGTTCGAGTGTCTATCGATTGGATCTTCGTGGGAATTTGATGGTGTGCTGTGGTGGTCTCGGAGAACTCGAAATTTAGAGCGCCAAACATTTATGATTAATATAC
Hilara sp. 2	TCGCATGATGATTAATTTCCGAGAAATTTACAATGTGCTGGTTCGAGTGTCTATCGATTGGATCTTCGTGGGAATTTGATGGTGTGCTGTGGTGGTCTCGGAGAACTCGAAATTTAGAGCGCCAAACATTTATGATTAATATAC
Hilara sp. 3	ACACATGATGATTAATTTCCGAGAAATTTACAATGTGCTGGTTCGAGTGTCTATCGATTGGATCTTCGTGGGAATTTGATGGTGTGCTGTGGTGGTCTCGGAGAACTCGAAATTTAGAGCGCCAAACATTTATGATTAATATAC
Hilara sp. 4	ATGCAATGACATGAAATTTCCCGGAGAAATTTACAATGTGCTGGTTCGAGTGTCTATCGATTGGATCTTCGTGGGAATTTGATGGTGTGCTGTGGTGGTCTCGGAGAACTCGAAATTTAGAGCGCCAAACATTTATGATTAATATAC
Hilarempis sp. 1	ACCGATGACATGAAATTTCCCGAGAAATTTACAATGTGCTGGTTCGAGTGTCTATCGATTGGATCTTCGTGGGAATTTGATGGTGTGCTGTGGTGGTCTCGGAGAACTCGAAATTTAGAGCGCCAAACATTTATGATTAATATAC
Hilarempis sp. 2	GCAAATGACATGAAATTTCCCGAGAAATTTACAATGTGCTGGTTCGAGTGTCTATCGATTGGATCTTCGTGGGAATTTGATGGTGTGCTGTGGTGGTCTCGGAGAACTCGAAATTTAGAGCGCCAAACATTTATGATTAATATAC
Hilarigona brachygastra	ACACATGACATGAAATTTCCCGAGAAATTTACAATGTGCTGGTTCGAGTGTCTATCGATTGGATCTTCGTGGGAATTTGATGGTGTGCTGTGGTGGTCTCGGAGAACTCGAAATTTAGAGCGCCAAACATTTATGATTAATATAC
Clinorhampha sp. 1	-----
Clinorhampha sp. 2	-----
Clinorhampha sp. 3	ACACATGATGATTAATTTCCCGAGAAATTTACAATGTGCTGGTTCGAGTGTCTATCGATTGGATCTTCGTGGGAATTTGATGGTGTGCTGTGGTGGTCTCGGAGAACTCGAAATTTAGAGCGCCAAACATTTATGATTAATATAC
Empidadelpha sobrina	ACACATGATGATTAATTTCCCGAGAAATTTACAATGTGCTGGTTCGAGTGTCTATCGATTGGATCTTCGTGGGAATTTGATGGTGTGCTGTGGTGGTCTCGGAGAACTCGAAATTTAGAGCGCCAAACATTTATGATTAATATAC
Empis (Anacrotichia) sp.	ACTGATGATGATTAATTTCCCGAGAAATTTACAATGTGCTGGTTCGAGTGTCTATCGATTGGATCTTCGTGGGAATTTGATGGTGTGCTGTGGTGGTCTCGGAGAACTCGAAATTTAGAGCGCCAAACATTTATGATTAATATAC
Empis (Coptophlebia) albinoervis	GCACATGATGATTAATTTCCCGAGAAATTTACAATGTGCTGGTTCGAGTGTCTATCGATTGGATCTTCGTGGGAATTTGATGGTGTGCTGTGGTGGTCTCGGAGAACTCGAAATTTAGAGCGCCAAACATTTATGATTAATATAC
Empis (C.) leptomeron	ACCAATGATGATTAATTTCCCGAGAAATTTACAATGTGCTGGTTCGAGTGTCTATCGATTGGATCTTCGTGGGAATTTGATGGTGTGCTGTGGTGGTCTCGGAGAACTCGAAATTTAGAGCGCCAAACATTTATGATTAATATAC
Empis (C.) sp. 1	GAACATGACATGATTAATTTCCCGAGAAATTTACAATGTGCTGGTTCGAGTGTCTATCGATTGGATCTTCGTGGGAATTTGATGGTGTGCTGTGGTGGTCTCGGAGAACTCGAAATTTAGAGCGCCAAACATTTATGATTAATATAC
Empis (C.) sp. 2	ACACATGATGATTAATTTCCCGAGAAATTTACAATGTGCTGGTTCGAGTGTCTATCGATTGGATCTTCGTGGGAATTTGATGGTGTGCTGTGGTGGTCTCGGAGAACTCGAAATTTAGAGCGCCAAACATTTATGATTAATATAC
Empis (C.) sp. 3	ACACATGATGATTAATTTCCCGAGAAATTTACAATGTGCTGGTTCGAGTGTCTATCGATTGGATCTTCGTGGGAATTTGATGGTGTGCTGTGGTGGTCTCGGAGAACTCGAAATTTAGAGCGCCAAACATTTATGATTAATATAC
Empis (C.) sp. 4	ACACATGATGATTAATTTCCCGAGAAATTTACAATGTGCTGGTTCGAGTGTCTATCGATTGGATCTTCGTGGGAATTTGATGGTGTGCTGTGGTGGTCTCGGAGAACTCGAAATTTAGAGCGCCAAACATTTATGATTAATATAC
Empis (C.) sp. 5	ACACATGATGATTAATTTCCCGAGAAATTTACAATGTGCTGGTTCGAGTGTCTATCGATTGGATCTTCGTGGGAATTTGATGGTGTGCTGTGGTGGTCTCGGAGAACTCGAAATTTAGAGCGCCAAACATTTATGATTAATATAC
Empis (Empis) aestiva	-----
Empis (E.) chioptera	ATACATGATGATTAATTTCCCGAGAAATTTACAATGTGCTGGTTCGAGTGTCTATCGATTGGATCTTCGTGGGAATTTGATGGTGTGCTGTGGTGGTCTCGGAGAACTCGAAATTTAGAGCGCCAAACATTTATGATTAATATAC
Empis (E.) melanotricha	-----
Empis (E.) nr. malleola 1	-----
Empis (E.) nr. malleola 2	-----
Empis (E.) nuntia	-----
Empis (E.) planetica	-----
Empis (E.) pennipes	-----
Empis (E.) tanysphyra	-----
Empis (E.) sp. 1	GAACATGACATGATTAATTTCCCGAGAAATTTACAATGTGCTGGTTCGAGTGTCTATCGATTGGATCTTCGTGGGAATTTGATGGTGTGCTGTGGTGGTCTCGGAGAACTCGAAATTTAGAGCGCCAAACATTTATGATTAATATAC
Empis (E.) sp. 2	GAACATGATGATTAATTTCCCGAGAAATTTACAATGTGCTGGTTCGAGTGTCTATCGATTGGATCTTCGTGGGAATTTGATGGTGTGCTGTGGTGGTCTCGGAGAACTCGAAATTTAGAGCGCCAAACATTTATGATTAATATAC
Empis (Euplemis) popliten	-----
Empis (Kritempis) livida	ACCAATGATGATTAATTTCCCGAGAAATTTACAATGTGCTGGTTCGAGTGTCTATCGATTGGATCTTCGTGGGAATTTGATGGTGTGCTGTGGTGGTCTCGGAGAACTCGAAATTTAGAGCGCCAAACATTTATGATTAATATAC
Empis (Lisempis) sp.	-----
Empis (Planempis) sp.	-----
Empis (Polybephepharis) nr. crassa	-----
Empis (P.) sp.	-----
Empis copiosa	-----
Empis fulvicollis	-----
Empis languescens	-----
Empis lateralis	-----
Empis leptogastra	ACCAATGATGATTAATTTCCCGAGAAATTTACAATGTGCTGGTTCGAGTGTCTATCGATTGGATCTTCGTGGGAATTTGATGGTGTGCTGTGGTGGTCTCGGAGAACTCGAAATTTAGAGCGCCAAACATTTATGATTAATATAC

Posições 3001 - 3150

Hyperperacera nemoralis	ATGGATTGGCATCGGCAACAA--	TTGGTCAAAATCATAAAGATATTGGTACACTTTATTTCACTCTGGTGGCCGGAATAGTGGGAACCTCTTAAGTA
Oreopseella sp.	-----	-----GAGCTGGATAGTAGGAACCTCTTAAGAA
Hesperempis sp.	ATGGATTGGCATCGGCAACAA--	-----
Normopseia sp.	ATGGATTGGCATCGGCAACAA--	-----
Iteaphila sp.	ATGGATTGGCATCGTCAACAG--	-----
Oreogeton scopifer	ATGGATTGGCATCGGCAACAG--	-----
Philetus sp.	-----	-----
Aplomera sp.	-----	-----
Atrichopseura sp.	-----	-----
Hilara obscura	-----	-----
Hilara seriata	-----	-----
Hilara sp. 1	-----	-----
Hilara sp. 2	-----	-----
Hilara sp. 3	-----	-----
Hilara sp. 4	-----	-----
Hilara sp. 5	-----	-----
Hilarigona brachygastra	-----	-----
Clinorhampha sp. 1	-----	-----
Clinorhampha sp. 2	-----	-----
Clinorhampha sp. 3	-----	-----
Empidadelpha sobrina	ATGGATTGGCATCGGCAACAA--	-----
Empis (Anacrothichus) sp.	-----	-----
Empis (Coptophlebia) albinervis	-----	-----
Empis (C.) leptomeron	-----	-----
Empis (C.) sp. 1	-----	-----
Empis (C.) sp. 2	-----	-----
Empis (C.) sp. 3	-----	-----
Empis (C.) sp. 4	-----	-----
Empis (C.) sp. 5	-----	-----
Empis (Empis) aestiva	-----	-----
Empis (E.) chioptera	-----	-----
Empis (E.) melanotricha	-----	-----
Empis (E.) nr. malleola 1	-----	-----
Empis (E.) nr. malleola 2	-----	-----
Empis (E.) nuntia	-----	-----
Empis (E.) planctica	-----	-----
Empis (E.) pennipes	-----	-----
Empis (E.) tanyphora	-----	-----
Empis (E.) sp. 1	-----	-----
Empis (E.) sp. 2	-----	-----
Empis (Enoplemis) poplitea	-----	-----
Empis (Kriempeis) livida	-----	-----
Empis (Lissemis) sp.	-----	-----
Empis (Planemipis) sp.	-----	-----
Empis (Polyphlephas) nr. crassa	-----	-----
Empis (P.) sp.	-----	-----
Empis copiosa	-----	-----
Empis fulvicollis	-----	-----
Empis languescens	-----	-----
Empis lateralis	-----	-----
Empis leptogastra	-----	-----
Empismacrorrhyncha	-----	-----
Empis nigricolor	-----	-----
Empis perpusilla	-----	-----
Empis nr. recordabilis	-----	-----
Empis vaginifer	-----	-----
Empis sp. 1	-----	-----
Empis sp. 2	-----	-----
Empis sp. 3	-----	-----
Empis sp. 4	-----	-----
Empis sp. 5	-----	-----
Empis sp. 6	-----	-----
Empis sp. 7	-----	-----
Empis sp. 8	-----	-----
Empis sp. 9	-----	-----
Empis sp. 10	-----	-----
Empis sp. 11	-----	-----
Empis sp. 12	-----	-----
Empis sp. 13	-----	-----
Empis sp. 14	-----	-----
Empis sp. 15	-----	-----
Empis sp. 16	-----	-----
Empis sp. 17	-----	-----
Empis sp. 18	-----	-----
Empis sp. 19	-----	-----
Empis sp. 20	-----	-----
Empis sp. 21	-----	-----
Hystichonotus revelator	-----	-----
Hystichonotus sp.	-----	-----
Lampremis sp. 1	-----	-----
Lampremis sp. 2	-----	-----
Lampremis sp. 3	-----	-----
Lampremis sp. 4	-----	-----
Lampremis sp. 5	-----	-----
Lampremis sp. 6	-----	-----
Lampremis sp. 7	-----	-----
Lampremis sp. 8	-----	-----
Macrostomus sp. 1	-----	-----
Macrostomus sp. 2	-----	-----
Macrostomus sp. 3	-----	-----
Macrostomus sp. 4	-----	-----
Macrostomus sp. 5	-----	-----
Macrostomus sp. 6	-----	-----
Macrostomus sp. 7	-----	-----
Macrostomus sp. 8	-----	-----
Macrostomus sp. 9	-----	-----
Macrostomus sp. 10	-----	-----
Opatocerata sp. 1	-----	-----
Opatocerata sp. 2	-----	-----
Porphyrochroa sp. 1	-----	-----
Porphyrochroa sp. 2	-----	-----
Porphyrochroa sp. 3	-----	-----
Porphyrochroa sp. 4	-----	-----
Porphyrochroa sp. 5	-----	-----
Porphyrochroa sp. 6	-----	-----
Porphyrochroa sp. 7	-----	-----
Porphyrochroa sp. 8	-----	-----
Porphyrochroa sp. 9	-----	-----
Porphyrochroa sp. 10	-----	-----
Porphyrochroa sp. 11	-----	-----
Porphyrochroa sp. 12	-----	-----
Porphyrochroa sp. 13	-----	-----
Porphyrochroa sp. 14	-----	-----
Porphyrochroa sp. 15	-----	-----
Porphyrochroa sp. 16	-----	-----
Porphyrochroa sp. 17	-----	-----
Porphyrochroa sp. 18	-----	-----
Porphyrochroa sp. 19	-----	-----
Porphyrochroa sp. 20	-----	-----
Porphyrochroa sp. 21	-----	-----
Porphyrochroa sp. 22	-----	-----
Porphyrochroa sp. 23	-----	-----
Porphyrochroa sp. 24	-----	-----
Rhamphomyia (Actenemipis) longipes	-----	-----
Rhamphomyia (Actenemipis) villosura	-----	-----
Rhamphomyia (Alpinomyia) sp.	-----	-----
Rhamphomyia (Amydronaura) erythrophthalma	-----	-----
Rhamphomyia (Argyremipis) sp. 1	-----	-----
Rhamphomyia (A.) sp. 2	-----	-----
Rhamphomyia (Calorhamphomyia) compta	-----	-----
Rhamphomyia (Coloterthron) umbrosa	-----	-----
Rhamphomyia (Eorhamphomyia) scutellaris	-----	-----
Rhamphomyia (Hicliera) fliviventris	-----	-----
Rhamphomyia (H.) nigripennis	-----	-----
Rhamphomyia (H.) sp. 1	-----	-----

[illegible]

Posições 3751 - 3900

Hyperperacera nemoralis	TTGATTTTGGTCA-----
Oropelella sp.	TTGATTTTGGTCATCTCGAA-GTATATATTTAACTTACCAGGATTTGGAAATAATTTCTCATATTATTAGTCAAGAATGTGGAAAAAGAAACCTTTGGAGCATAGGAATAATTTATGCTATATTAGCAATTGGATTATTAGA
Hesperempis sp.	TTGATTTTGGTCA-----
Homopera sp.	TTGATTTTGGTCA-----
Iteaphila sp.	TTGATTTTGGTCA-----
Oreogeton scopifer	TTGATTTTGGTCA-----
Philetus sp.	TTGATTTTGGTCA-----
Apionera sp.	TTGATTTTGGTCA-----
Atrichopleura sp.	TTGATTTTGGTCA-----
Hilara obscura	TTGATTTTGGTCA-----
Hilara seriata	TTGATTTTGGTCA-----
Hilara sp. 1	TTGATTTTGGTCA-----
Hilara sp. 2	TTGATTTTGGTCA-----
Hilara sp. 3	TTGATTTTGGTCA-----
Hilara sp. 4	TTGATTTTGGTCA-----
Hilarempis sp. 1	TTGATTTTGGTCA-----
Hilarempis sp. 2	TTGATTTTGGTCA-----
Hilarigona brachygastra	TTGATTTTGGTCA-----
Clinorhampha sp. 1	TTGATTTTGGTCA-----
Clinorhampha sp. 2	TTGATTTTGGTCA-----
Clinorhampha sp. 3	TTGATTTTGGTCA-----
Empidadelpho sobrina	TTGATTTTGGTCA-----
Empis (Anacrostichus) sp.	TTGATTTTGGTCA-----
Empis (Coptophlebia) albinervis	TTGATTTTGGTCA-----
Empis (C.) leptomerion	TTGATTTTGGTCA-----
Empis (C.) sp. 1	TTGATTTTGGTCA-----
Empis (C.) sp. 2	TTGATTTTGGTCA-----
Empis (C.) sp. 3	TTGATTTTGGTCA-----
Empis (C.) sp. 4	TTGATTTTGGTCA-----
Empis (C.) sp. 5	TTGATTTTGGTCA-----
Empis (Empis) aestiva	TTGATTTTGGTCA-----
Empis (E.) chioptera	TTGATTTTGGTCA-----
Empis (E.) melanotricha	TTGATTTTGGTCA-----
Empis (E.) nr. malleola 1	TTGATTTTGGTCA-----
Empis (E.) nr. malleola 2	TTGATTTTGGTCA-----
Empis (E.) nuntia	TTGATTTTGGTCA-----
Empis (E.) planetica	TTGATTTTGGTCA-----
Empis (E.) penipies	TTGATTTTGGTCA-----
Empis (E.) tanyphyra	TTGATTTTGGTCA-----
Empis (E.) sp. 1	TTGATTTTGGTCA-----
Empis (E.) sp. 2	TTGATTTTGGTCA-----
Empis (Empilempis) poplitea	TTGATTTTGGTCA-----
Empis (Krittempis) livida	TTGATTTTGGTCA-----
Empis (Lisempis) sp.	TTGATTTTGGTCA-----
Empis (Planempis) sp.	TTGATTTTGGTCA-----
Empis (Polyblepharis) nr. crassa	TTGATTTTGGTCA-----
Empis (P.) sp.	TTGATTTTGGTCA-----
Empis copiosa	TTGATTTTGGTCA-----
Empis fulvicollis	TTGATTTTGGTCA-----
Empis languescens	TTGATTTTGGTCA-----
Empis lateralis	TTGATTTTGGTCA-----
Empis leptogaster	TTGATTTTGGTCA-----
Empismacrorrhyncha	TTGATTTTGGTCA-----
Empis nigricolor	TTGATTTTGGTCA-----
Empis perpusilla	TTGATTTTGGTCA-----
Empis nr. recordabilis	TTGATTTTGGTCA-----
Empis vaginifer	TTGATTTTGGTCA-----
Empis sp. 1	TTGATTTTGGTCA-----
Empis sp. 2	TTGATTTTGGTCA-----
Empis sp. 3	TTGATTTTGGTCA-----
Empis sp. 4	TTGATTTTGGTCA-----
Empis sp. 5	TTGATTTTGGTCA-----
Empis sp. 6	TTGATTTTGGTCA-----
Empis sp. 7	TTGATTTTGGTCA-----
Empis sp. 8	TTGATTTTGGTCA-----
Empis sp. 9	TTGATTTTGGTCA-----
Empis sp. 10	TTGATTTTGGTCA-----
Empis sp. 11	TTGATTTTGGTCA-----
Empis sp. 12	TTGATTTTGGTCA-----
Empis sp. 13	TTGATTTTGGTCA-----
Empis sp. 14	TTGATTTTGGTCA-----
Empis sp. 15	TTGATTTTGGTCA-----
Empis sp. 16	TTGATTTTGGTCA-----
Empis sp. 17	TTGATTTTGGTCA-----
Empis sp. 18	TTGATTTTGGTCA-----
Empis sp. 19	TTGATTTTGGTCA-----
Empis sp. 20	TTGATTTTGGTCA-----
Empis sp. 21	TTGATTTTGGTCA-----
Hystichonotus revelator	TTGATTTTGGTCA-----
Lampremis sp. 1	TTGATTTTGGTCA-----
Lampremis sp. 2	TTGATTTTGGTCA-----
Lampremis sp. 3	TTGATTTTGGTCA-----
Lampremis sp. 4	TTGATTTTGGTCA-----
Lampremis sp. 5	TTGATTTTGGTCA-----
Lampremis sp. 6	TTGATTTTGGTCA-----
Lampremis sp. 7	TTGATTTTGGTCA-----
Lampremis sp. 8	TTGATTTTGGTCA-----
Macroctonus sp. 1	TTGATTTTGGTCA-----
Macroctonus sp. 2	TTGATTTTGGTCA-----
Macroctonus sp. 3	TTGATTTTGGTCA-----
Macroctonus sp. 4	TTGATTTTGGTCA-----
Macroctonus sp. 5	TTGATTTTGGTCA-----
Macroctonus sp. 6	TTGATTTTGGTCA-----
Macroctonus sp. 7	TTGATTTTGGTCA-----
Macroctonus sp. 8	TTGATTTTGGTCA-----
Macroctonus sp. 9	TTGATTTTGGTCA-----
Macroctonus sp. 10	TTGATTTTGGTCA-----
Opatocerata sp. 1	TTGATTTTGGTCA-----
Opatocerata sp. 2	TTGATTTTGGTCA-----
Porphyrochroa sp. 1	TTGATTTTGGTCA-----
Porphyrochroa sp. 2	TTGATTTTGGTCA-----
Porphyrochroa sp. 3	TTGATTTTGGTCA-----
Porphyrochroa sp. 4	TTGATTTTGGTCA-----
Porphyrochroa sp. 5	TTGATTTTGGTCA-----
Porphyrochroa sp. 6	TTGATTTTGGTCA-----
Porphyrochroa sp. 7	TTGATTTTGGTCA-----
Porphyrochroa sp. 8	TTGATTTTGGTCA-----
Porphyrochroa sp. 9	TTGATTTTGGTCA-----
Porphyrochroa sp. 10	TTGATTTTGGTCA-----
Porphyrochroa sp. 11	TTGATTTTGGTCA-----
Porphyrochroa sp. 12	TTGATTTTGGTCA-----
Porphyrochroa sp. 13	TTGATTTTGGTCA-----
Porphyrochroa sp. 14	TTGATTTTGGTCA-----
Porphyrochroa sp. 15	TTGATTTTGGTCA-----
Porphyrochroa sp. 16	TTGATTTTGGTCA-----
Porphyrochroa sp. 17	TTGATTTTGGTCA-----
Porphyrochroa sp. 18	TTGATTTTGGTCA-----
Porphyrochroa sp. 19	TTGATTTTGGTCA-----
Porphyrochroa sp. 20	TTGATTTTGGTCA-----
Porphyrochroa sp. 21	TTGATTTTGGTCA-----
Porphyrochroa sp. 22	TTGATTTTGGTCA-----
Porphyrochroa sp. 23	TTGATTTTGGTCA-----
Porphyrochroa sp. 24	TTGATTTTGGTCA-----
Rhamphomyia (Aclonempis) longipes	TTGATTTTGGTCA-----
Rhamphomyia (Actenempis) villosa	TTGATTTTGGTCA-----
Rhamphomyia (Alpinomyia) sp.	TTGATTTTGGTCA-----
Rhamphomyia (Amydronera) erythrophthalma	TTGATTTTGGTCA-----
Rhamphomyia (Argyremis) sp. 1	TTGATTTTGGTCA-----
Rhamphomyia (A.) sp. 2	TTGATTTTGGTCA-----
Rhamphomyia (Calorhamphomyia) compta	TTGATTTTGGTCA-----
Rhamphomyia (Coloterthron) umbrosa	TTGATTTTGGTCA-----
Rhamphomyia (Eorhamphomyia) scutellaris	TTGATTTTGGTCA-----
Rhamphomyia (Holoclers) flaviventris	TTGATTTTGGTCA-----
Rhamphomyia (H.) nigripennis	TTGATTTTGGTCA-----
Rhamphomyia (H.) sp. 1	TTGATTTTGGTCA-----

Rhamphomyia (H.) sp. 2	TTTGATTT-----
Rhamphomyia (Megacyttarus) crassirostris	TTTGATTTTTCGGTCATCCAGAGTTTATATTTA-----
Rhamphomyia (H.) sp.	TTTGATTTTTCGGTCACC-----
Rhamphomyia (Megandria) longicauda	TTTGATTTTTCGGTCACC-----
Rhamphomyia (Orientomyia) sp.	TTTGATTTTTCGGTCACC-----
Rhamphomyia (Pararhamphomyia) barbata	TCTGATTTTTCGGTCAC-----
Rhamphomyia (P.) marginata	TTTGATTTTTCGGTCACCCAGAA-GTTTATATTT-----
Rhamphomyia (P.) nr. ciliatopode-setosa	TTTGATTTTTCGGT-----
Rhamphomyia (P.) nr. lamifera	TTTGATTTTTCGGT-----TCACC-----
Rhamphomyia (P.) tibialia	TTTGATTTTTCGGACACCCAGAA-GTTTATATTT-----
Rhamphomyia (P.) sp.	TTTGATTTTTCGG-----
Rhamphomyia (Rhamphomyia) sp.	TTTGATTTTTCGG-----
Rhamphomyia interseta	TTTGATTT-----
Rhamphomyia nitidivittata	TTTGATTTTTCGGACACCCAGAGTTTATATTTTAAATTTACCGAGATTGGTATAAATTTCTCATATTATTAGTCAGAATGTGGAAAAAGGAACATTGGATCTTTAGGTATAAATTTATGCTATATTAGTATGCTCTTTAGGTT-----
Rhamphomyia variabilis	TTTGATTTTTCGGT-----
Rhamphomyia sp. 1	TTTGATTTTTCGGTCACC-----
Rhamphomyia sp. 2	TTTGATTTTTCGGTCACC-----
Rhamphomyia sp. 3	TTTGATTTTTCGGTCACC-----
Rhamphomyia sp. 4	TTTGATTTTTCGGTCACC-----
Rhamphomyia sp. 5	TTTGATTTTTCGGTCACC-----
Rhamphomyia sp. 6	TTTGATTTTTCGGTCACC-----
Sphicosa sp. 1	TTTGATTTTTCGGT-----
Sphicosa sp. 2	TTTGATTTTTCGGT-----
Sphicosa sp. 3	TTTGATTTTTCGGT-----

Posições 3901 - 3926

	x	x
Hyperperacera nemoralis	-----	-----
Oropesella sp.	TTTATTGTTGAGCTCATC-----	-----
Hesperempis sp.	-----	-----
Hornopena sp.	-----	-----
Itsochila sp.	-----	-----
Oreogeton scopifer	-----	-----
Philetus sp.	-----	-----
Aplomera sp.	-----	-----
Atrichopleura sp.	-----	-----
Hilara obscura	-----	-----
Hilara seriata	-----	-----
Hilara sp. 1	-----	-----
Hilara sp. 2	-----	-----
Hilara sp. 3	TTTATT-----	-----
Hilara sp. 4	-----	-----
Hilarempis sp. 1	-----	-----
Hilarempis sp. 2	-----	-----
Hilarigona brachygastra	-----	-----
Clinorhampha sp. 1	-----	-----
Clinorhampha sp. 2	-----	-----
Clinorhampha sp. 3	-----	-----
Empidadaelpha sobrina	-----	-----
Empis (Anacrostichus) sp.	-----	-----
Empis (Coctophlebia) albinervis	-----	-----
Empis (C.) leptomorian	-----	-----
Empis (C.) sp. 1	-----	-----
Empis (C.) sp. 2	-----	-----
Empis (C.) sp. 3	-----	-----
Empis (C.) sp. 4	-----	-----
Empis (C.) sp. 5	-----	-----
Empis (Empis) aestiva	-----	-----
Empis (E.) chioptera	-----	-----
Empis (E.) melanotricha	-----	-----
Empis (E.) nr. malleola 1	-----	-----
Empis (E.) nr. malleola 2	-----	-----
Empis (E.) nuntia	-----	-----
Empis (E.) planetica	TTTATTGTATGAGCTCATATA-----	-----
Empis (E.) pennipes	-----	-----
Empis (E.) tanyphyra	-----	-----
Empis (E.) sp. 1	-----	-----
Empis (E.) sp. 2	-----	-----
Empis (Enopliempis) poplitea	-----	-----
Empis (Kritempis) livida	-----	-----
Empis (Lisempis) sp.	-----	-----
Empis (Planempis) sp.	-----	-----
Empis (Polyblepharis) nr. crassa	-----	-----
Empis (P.) sp.	-----	-----
Empis copiosa	-----	-----
Empis fulvicollis	-----	-----
Empis languescens	-----	-----
Empis lateralis	-----	-----
Empis leptogastra	-----	-----
Empismacrorrhyncha	-----	-----
Empis nigricolor	-----	-----
Empis perpusilla	-----	-----
Empis nr. recordabilis	-----	-----
Empis vaginifer	-----	-----
Empis sp. 1	-----	-----
Empis sp. 2	-----	-----
Empis sp. 3	-----	-----
Empis sp. 4	-----	-----
Empis sp. 5	-----	-----
Empis sp. 6	-----	-----
Empis sp. 7	-----	-----
Empis sp. 8	TTTATTGTATGAGCTCATC-----	-----
Empis sp. 9	-----	-----
Empis sp. 10	-----	-----
Empis sp. 11	-----	-----
Empis sp. 12	-----	-----
Empis sp. 13	-----	-----
Empis sp. 14	TTA-----	-----
Empis sp. 15	-----	-----
Empis sp. 16	-----	-----
Empis sp. 17	-----	-----
Empis sp. 18	-----	-----
Empis sp. 19	-----	-----
Empis sp. 20	-----	-----
Empis sp. 21	TTATTG-----	-----
Hystichonotus revelator	-----	-----
Hystichonotus sp.	-----	-----
Lampremis sp. 1	-----	-----
Lampremis sp. 2	-----	-----
Lampremis sp. 3	-----	-----
Lampremis sp. 4	-----	-----
Lampremis sp. 5	-----	-----
Lampremis sp. 6	-----	-----
Lampremis sp. 7	-----	-----
Lampremis sp. 8	-----	-----
Macrostomus sp. 1	-----	-----
Macrostomus sp. 2	TTTATTGTTGAGCTCA-----	-----
Macrostomus sp. 3	-----	-----
Macrostomus sp. 4	TTTATTGTATGAGCTC-----	-----
Macrostomus sp. 5	-----	-----
Macrostomus sp. 6	-----	-----
Macrostomus sp. 7	-----	-----
Macrostomus sp. 8	TTTATTGTTGAGCTCATATA-----	-----
Macrostomus sp. 9	-----	-----
Macrostomus sp. 10	-----	-----
Opeatocera sp. 1	-----	-----
Opeatocera sp. 2	-----	-----
Porphyrochroa sp. 1	TTTATTG-----	-----
Porphyrochroa sp. 2	-----	-----
Porphyrochroa sp. 3	-----	-----
Porphyrochroa sp. 4	-----	-----
Porphyrochroa sp. 5	-----	-----
Porphyrochroa sp. 6	-----	-----
Porphyrochroa sp. 7	-----	-----

Porphyrochroa sp. 8	-----
Porphyrochroa sp. 9	-----
Porphyrochroa sp. 10	-----
Porphyrochroa sp. 11	-----
Porphyrochroa sp. 12	-----
Porphyrochroa sp. 13	-----
Porphyrochroa sp. 14	-----
Porphyrochroa sp. 15	-----
Porphyrochroa sp. 16	-----
Porphyrochroa sp. 17	-----
Porphyrochroa sp. 18	-----
Porphyrochroa sp. 19	-----
Porphyrochroa sp. 20	-----
Porphyrochroa sp. 21	-----
Porphyrochroa sp. 22	-----
Porphyrochroa sp. 23	-----
Porphyrochroa sp. 24	-----
Rhamphomyia (Acionempia) longipes	-----
Rhamphomyia (Actenempis) villosura	-----
Rhamphomyia (Alpinomyia) sp.	-----
Rhamphomyia (Amydreoneura) erythrophthalma	-----
Rhamphomyia (Argyrempis) sp. 1	-----
Rhamphomyia (A.) sp. 2	-----
Rhamphomyia (Calorhamphomyia) compta	TCATTGTTGAGCTCATATATA-----
Rhamphomyia (Coloterthron) umbrosa	TTATTGTTGAGCTCATATA-----
Rhamphomyia (Eorhamphomyia) scutellaris	TTATCGTCTGAGCTCATC-----
Rhamphomyia (Holoclera) flaviventris	-----
Rhamphomyia (H.) nigripennis	-----
Rhamphomyia (H.) sp. 1	-----
Rhamphomyia (H.) sp. 2	-----
Rhamphomyia (Megacyttarus) crassirostris	-----
Rhamphomyia (M.) sp.	-----
Rhamphomyia (Megandria) longicauda	-----
Rhamphomyia (Orientomyia) sp.	-----
Rhamphomyia (Pararhamphomyia) barbata	-----
Rhamphomyia (P.) marginata	-----
Rhamphomyia (P.) nr. ciliatopode-setosa	-----
Rhamphomyia (P.) nr. lamnifera	-----
Rhamphomyia (P.) tibiella	-----
Rhamphomyia (P.) sp.	-----
Rhamphomyia (Rhamphomyia) sp.	-----
Rhamphomyia interseta	-----
Rhamphomyia nitidivittata	TTATTGTTGAGCCCATCATATATT
Rhamphomyia variabilis	-----
Rhamphomyia sp. 1	-----
Rhamphomyia sp. 2	-----
Rhamphomyia sp. 3	-----
Rhamphomyia sp. 4	-----
Rhamphomyia sp. 5	-----
Rhamphomyia sp. 6	-----
Sphicosa sp. 1	-----
Sphicosa sp. 2	-----
Sphicosa sp. 3	-----

[illegible]

perpaceramus nemoralis
Oropesella sp. 1
Oropesella sp. 2
Hemiprepis sp. 1
Hemiprepis sp. 2
Hemiprepis sp. 3
Hemiprepis sp. 4
Oreogiton scopifer
Philetus sp.
Clinorhampha sp. 1
Clinorhampha sp. 2
Clinorhampha sp. 3
Empidadelphina sobrina
Empis fulvicollis
Empis ovipennis
Empis macrotrichya
Empis nigricolor
Empis (Coptophlebia) albinervis
Empis (Coptophlebia) leptorhizon
Empis signifer
Empis sp. lateretia
Lamprepis sp.
Macrostomus sp. 1
Macrostomus sp. 2
Macrostomus sp. 3
Opeptocora sp. 1
Porphyrochroa sp. 1
Porphyrochroa sp. 2
Porphyrochroa sp. 3
Porphyrochroa sp. 4
Porphyrochroa sp. 5
Atrichopleura caudata
Atrichopleura spinipes
Atrichopleura sp. 1
Atrichopleura sp. 2
Atrichopleura sp. 3
Deuterogonista sp. 1
Deuterogonista sp. 2
Deuterogonista sp. 3
Hilera armata
Hilera obscura
Hilera sericata
Hilera tristis
Hilera sp. 1
Hilera sp. 2
Hilera sp. 3
Hilera sp. 4
Hilera sp. 5
Hilera sp. 6
Hilera sp. 7
Hilera sp. 8
Hilera sp. 9
Hilera sp. 10
Hilera sp. 11
Hilera sp. 12
Hilera sp. 13
Hilera sp. 14
Hilera sp. 15
Hilera sp. 16
Hilera sp. 17
Hilera sp. 18
Hilera sp. 19
Hilera sp. 20
Hilera sp. 21
Hilera sp. 22
Hilera sp. 23
Hilera sp. 24
Hilera sp. 25
Hilera sp. 26
Hilera sp. 27
Hilera sp. 28
Hilera sp. 29
Hilera sp. 30
Hilera sp. 31
Hilera sp. 32
Hilera sp. 33
Hilera sp. 34
Hilera sp. 35
Hilera sp. 36
Hilera sp. 37
Hilera sp. 38
Hilera sp. 39
Hilera sp. 40
Hilera sp. 41
Hilera sp. 42
Hilera sp. 43
Hilera sp. 44
Hilera sp. 45
Hilera sp. 46
Hilera sp. 47
Hilera sp. 48
Hilera sp. 49
Hilera sp. 50
Hilera sp. 51
Hilera sp. 52
Hilera sp. 53
Hilera sp. 54
Hilera sp. 55
Hilera sp. 56
Hilera sp. 57
Hilera sp. 58
Hilera sp. 59
Hilera sp. 60
Hilera sp. 61
Hilera sp. 62
Hilera sp. 63
Hilera sp. 64
Hilera sp. 65
Hilera sp. 66
Hilera sp. 67
Hilera sp. 68
Hilera sp. 69
Hilera sp. 70
Hilera sp. 71
Hilera sp. 72
Hilera sp. 73
Hilera sp. 74
Hilera sp. 75
Hilera sp. 76
Hilera sp. 77
Hilera sp. 78
Hilera sp. 79
Hilera sp. 80
Hilera sp. 81
Hilera sp. 82
Hilera sp. 83
Hilera sp. 84
Hilera sp. 85
Hilera sp. 86
Hilera sp. 87
Hilera sp. 88
Hilera sp. 89
Hilera sp. 90
Hilera sp. 91
Hilera sp. 92
Hilera sp. 93
Hilera sp. 94
Hilera sp. 95
Hilera sp. 96
Hilera sp. 97
Hilera sp. 98
Hilera sp. 99
Hilera sp. 100
Hilera sp. 101
Hilera sp. 102
Hilera sp. 103
Hilera sp. 104
Hilera sp. 105
Hilera sp. 106
Hilera sp. 107
Hilera sp. 108
Hilera sp. 109
Hilera sp. 110
Hilera sp. 111
Hilera sp. 112
Hilera sp. 113
Hilera sp. 114
Hilera sp. 115
Hilera sp. 116
Hilera sp. 117
Hilera sp. 118
Hilera sp. 119
Hilera sp. 120
Hilera sp. 121
Hilera sp. 122
Hilera sp. 123
Hilera sp. 124
Hilera sp. 125
Hilera sp. 126
Hilera sp. 127
Hilera sp. 128
Hilera sp. 129
Hilera sp. 130
Hilera sp. 131
Hilera sp. 132
Hilera sp. 133
Hilera sp. 134
Hilera sp. 135
Hilera sp. 136
Hilera sp. 137
Hilera sp. 138
Hilera sp. 139
Hilera sp. 140
Hilera sp. 141
Hilera sp. 142
Hilera sp. 143
Hilera sp. 144
Hilera sp. 145
Hilera sp. 146
Hilera sp. 147
Hilera sp. 148
Hilera sp. 149
Hilera sp. 150
Hilera sp. 151
Hilera sp. 152
Hilera sp. 153
Hilera sp. 154
Hilera sp. 155
Hilera sp. 156
Hilera sp. 157
Hilera sp. 158
Hilera sp. 159
Hilera sp. 160
Hilera sp. 161
Hilera sp. 162
Hilera sp. 163
Hilera sp. 164
Hilera sp. 165
Hilera sp. 166
Hilera sp. 167
Hilera sp. 168
Hilera sp. 169
Hilera sp. 170
Hilera sp. 171
Hilera sp. 172
Hilera sp. 173
Hilera sp. 174
Hilera sp. 175
Hilera sp. 176
Hilera sp. 177
Hilera sp. 178
Hilera sp. 179
Hilera sp. 180
Hilera sp. 181
Hilera sp. 182
Hilera sp. 183
Hilera sp. 184
Hilera sp. 185
Hilera sp. 186
Hilera sp. 187
Hilera sp. 188
Hilera sp. 189
Hilera sp. 190
Hilera sp. 191
Hilera sp. 192
Hilera sp. 193
Hilera sp. 194
Hilera sp. 195
Hilera sp. 196
Hilera sp. 197
Hilera sp. 198
Hilera sp. 199
Hilera sp. 200
Hilera sp. 201
Hilera sp. 202
Hilera sp. 203
Hilera sp. 204
Hilera sp. 205
Hilera sp. 206
Hilera sp. 207
Hilera sp. 208
Hilera sp. 209
Hilera sp. 210
Hilera sp. 211
Hilera sp. 212
Hilera sp. 213
Hilera sp. 214
Hilera sp. 215
Hilera sp. 216
Hilera sp. 217
Hilera sp. 218
Hilera sp. 219
Hilera sp. 220
Hilera sp. 221
Hilera sp. 222
Hilera sp. 223
Hilera sp. 224
Hilera sp. 225
Hilera sp. 226
Hilera sp. 227
Hilera sp. 228
Hilera sp. 229
Hilera sp. 230
Hilera sp. 231
Hilera sp. 232
Hilera sp. 233
Hilera sp. 234
Hilera sp. 235
Hilera sp. 236
Hilera sp. 237
Hilera sp. 238
Hilera sp. 239
Hilera sp. 240
Hilera sp. 241
Hilera sp. 242
Hilera sp. 243
Hilera sp. 244
Hilera sp. 245
Hilera sp. 246
Hilera sp. 247
Hilera sp. 248
Hilera sp. 249
Hilera sp. 250
Hilera sp. 251
Hilera sp. 252
Hilera sp. 253
Hilera sp. 254
Hilera sp. 255
Hilera sp. 256
Hilera sp. 257
Hilera sp. 258
Hilera sp. 259
Hilera sp. 260
Hilera sp. 261
Hilera sp. 262
Hilera sp. 263
Hilera sp. 264
Hilera sp. 265
Hilera sp. 266
Hilera sp. 267
Hilera sp. 268
Hilera sp. 269
Hilera sp. 270
Hilera sp. 271
Hilera sp. 272
Hilera sp. 273
Hilera sp. 274
Hilera sp. 275
Hilera sp. 276
Hilera sp. 277
Hilera sp. 278
Hilera sp. 279
Hilera sp. 280
Hilera sp. 281
Hilera sp. 282
Hilera sp. 283
Hilera sp. 284
Hilera sp. 285
Hilera sp. 286
Hilera sp. 287
Hilera sp. 288
Hilera sp. 289
Hilera sp. 290
Hilera sp. 291
Hilera sp. 292
Hilera sp. 293
Hilera sp. 294
Hilera sp. 295
Hilera sp. 296
Hilera sp. 297
Hilera sp. 298
Hilera sp. 299
Hilera sp. 300
Hilera sp. 301
Hilera sp. 302
Hilera sp. 303
Hilera sp. 304
Hilera sp. 305
Hilera sp. 306
Hilera sp. 307
Hilera sp. 308
Hilera sp. 309
Hilera sp. 310
Hilera sp. 311
Hilera sp. 312
Hilera sp. 313
Hilera sp. 314
Hilera sp. 315
Hilera sp. 316
Hilera sp. 317
Hilera sp. 318
Hilera sp. 319
Hilera sp. 320
Hilera sp. 321
Hilera sp. 322
Hilera sp. 323
Hilera sp. 324
Hilera sp. 325
Hilera sp. 326
Hilera sp. 327
Hilera sp. 328
Hilera sp. 329
Hilera sp. 330
Hilera sp. 331
Hilera sp. 332
Hilera sp. 333
Hilera sp. 334
Hilera sp. 335
Hilera sp. 336
Hilera sp. 337
Hilera sp. 338
Hilera sp. 339
Hilera sp. 340
Hilera sp. 341
Hilera sp. 342
Hilera sp. 343
Hilera sp

Hyperaspacera nemoralis
Orosperella sp. 1
Orosperella sp. 2
Hesperempis sp.
Hornospira sp.
Theopis sp.
Hesperempis sp. 1
Philetus sp.
Climacophora sp. 1

Hilarigona sp. 1
Hilarigona brachygastra
Hilarigona obscuripennis
Hilarigona pudica
Hilarigona sp. 1
Hilarigona sp. 2
Hilarigona sp. 3
Hilarigona sp. 3
Pseirichotus sp.
Thinemipis sp.

Posições 1051 - 1200

Hyperperacera nemoralis
Oropseilla sp. 1
Oropseilla sp. 2
Hespereripis sp.
Homopseia sp.
Itephilia sp.
Oreoretion scopifer
Philetus sp.
Clinorhampha sp. 1
Clinorhampha sp. 2
Clinorhampha sp. 3
Empidolebia sobrina
Empis copiosa
Empis fulvicollis
Empis lateralis
Empis macrorhyncha
Empis nigricolor
Empis (Coptophlebia) albinervis
Empis (Coptophlebia) leptomorian
Empis vaginifer
Empis sp.
Lampremis sp.
Macrostomus sp. 1
Macrostomus sp. 2
Macrostomus sp. 3
Opeutocera sp. 1
Porphyrochroa sp. 1
Porphyrochroa sp. 2
Porphyrochroa sp. 3
Porphyrochroa sp. 4
Rhamphomyia (Ampydrea) erythrophthalma
Rhamphomyia (Holocera) nigripennis
Rhamphomyia (Pararhamphomyia) barbata
Rhamphomyia (Pararhamphomyia) tibellia
Rhamphomyia Rhamphomyia sp.
Rhamphomyia interseta
Sphicosia sp. 1
Sphicosia sp. 2
Aplomera sp. 1
Aplomera sp. 2
Aplomera sp. 3
Aplomera sp. 4
Aplomera sp. 5
Atrichopleura caudata
Atrichopleura spinipes
Atrichopleura sp. 1
Atrichopleura sp. 2
Atrichopleura sp. 3
Deuteronigista sp. 1
Deuteronigista sp. 2
Hilara obscura
Hilara seriata
Hilara tristis
Hilara sp. 1
Hilara sp. 2
Hilara sp. 3
Hilara sp. 4
Hilara sp. 5
Hilara sp. 6
Hilara sp. 7
Hilara sp. 8
Hilara sp. 9
Hilara sp. 10
Hilara sp. 11
Hilara sp. 12
Hilara sp. 13
Hilara sp. 14
Hilara sp. 15
Hilara sp. 16
Hilara sp. 17
Hilara sp. 18
Hilara sp. 19
Hilarempis inops
Hilarempis facillilis
Hilarempis notabilis
Hilarempis sp. 1
Hilarempis sp. 2
Hilarempis sp. 3
Hilarempis sp. 4
Hilarempis sp. 5
Hilarempis sp. 6
Hilarempis sp. 7
Hilarigona brachygastra
Hilarigona obscuripennis
Hilarigona pudica
Hilarigona sp. 1
Hilarigona sp. 2
Hilarigona sp. 3
Pseirichotus sp.
Thinemipis sp.

Posições 1201 - 1350

Hyperperacera nemoralis
Oropseilla sp. 1
Oropseilla sp. 2
Hespereripis sp.
Homopseia sp.
Itephilia sp.
Oreoretion scopifer
Philetus sp.
Clinorhampha sp. 1
Clinorhampha sp. 2
Clinorhampha sp. 3
Empidolebia sobrina
Empis copiosa
Empis fulvicollis
Empis lateralis
Empis macrorhyncha
Empis nigricolor
Empis (Coptophlebia) albinervis
Empis (Coptophlebia) leptomorian
Empis vaginifer
Empis sp.

Hilara sp. 15
 Hilara sp. 16
 Hilara sp. 17
 Hilara sp. 18
 Hilara sp. 19
 Hilarempis inops
 Hilarempis facilis
 Hilarempis notabilis
 Hilarempis sp. 1
 Hilarempis sp. 2
 Hilarempis sp. 3
 Hilarempis sp. 4
 Hilarempis sp. 5
 Hilarempis sp. 6
 Hilarigona sp. 7
 Hilarigona brachygastra
 Hilarigona obscuripennis
 Hilarigona pudica
 Hilarigona sp. 1
 Hilarigona sp. 2
 Hilarigona sp. 3
 Pasitrichotus sp.
 Thinempis sp.

Posições 2101 - 2250

Hyperperacera nemoralis
 Oropeziella sp. 1
 Oropeziella sp. 2
 Hesperempis sp.
 Hesperempis sp.
 Itsoephila sp. 2
 Oreoretton scopifer
 Philetus sp.
 Clinorhampha sp. 1
 Clinorhampha sp. 2
 Clinorhampha sp. 3
 Empidaphlebia sobrina
 Empis copiosa
 Empis fulvicollis
 Empis lateralis
 Empis macrotrichia
 Empis nigricolor
 Empis (Coptophlebia) albinervis
 Empis (Coptophlebia) leptomeron
 Empis vaginifer
 Empis sp.
 Lampremis sp.
 Macrostomus sp. 1
 Macrostomus sp. 2
 Macrostomus sp. 3
 Opeutocera sp.
 Porphyrochroa sp. 1
 Porphyrochroa sp. 2
 Porphyrochroa sp. 3
 Porphyrochroa sp. 4
 Rhamphomyia (Amdyreneura) erythrophthalma
 Rhamphomyia (Holoclera) nigripennis
 Rhamphomyia (Pararhamphomyia) barbata
 Rhamphomyia (Pararhamphomyia) tibialis
 Rhamphomyia
 Rhamphomyia interata
 Spheciosa sp. 1
 Spheciosa sp. 2
 Aplomera sp. 1
 Aplomera sp. 2
 Aplomera sp. 3
 Aplomera sp. 4
 Aplomera sp. 5
 Atrichopleura caudata
 Atrichopleura spinipes
 Atrichopleura sp. 1
 Atrichopleura sp. 2
 Atrichopleura sp. 3
 Deuteragonista sp. 1
 Deuteragonista sp. 2
 Deuteragonista sp. 3
 Hilara armata
 Hilara obscura
 Hilara seriata
 Hilara tristis
 Hilara sp. 1
 Hilara sp. 2
 Hilara sp. 3
 Hilara sp. 4
 Hilara sp. 5
 Hilara sp. 6
 Hilara sp. 7
 Hilara sp. 8
 Hilara sp. 9
 Hilara sp. 10
 Hilara sp. 11
 Hilara sp. 12
 Hilara sp. 13
 Hilara sp. 14
 Hilara sp. 15
 Hilara sp. 16
 Hilara sp. 17
 Hilara sp. 18
 Hilara sp. 19
 Hilarempis inops
 Hilarempis facilis
 Hilarempis notabilis
 Hilarempis sp. 1
 Hilarempis sp. 2
 Hilarempis sp. 3
 Hilarempis sp. 4
 Hilarempis sp. 5
 Hilarempis sp. 6
 Hilarigona brachygastra
 Hilarigona obscuripennis
 Hilarigona pudica
 Hilarigona sp. 1
 Hilarigona sp. 2
 Hilarigona sp. 3
 Pasitrichotus sp.
 Thinempis sp.

Posições 2251 - 2400

Hyperperacera nemoralis
 Oropeziella sp. 1
 Oropeziella sp. 2
 Hesperempis sp.
 Hesperempis sp.
 Itsoephila sp. 2
 Oreoretton scopifer
 Philetus sp.

Hyperaspidea nemoralis
Orosperella sp. 1
Orosperella sp. 2
Hesperempis sp. 1
Hesperempis sp. 2
Teaphila sp.
Oreogeton scopifer
Philetus sp.
Cinlorhampa sp. 1
Cinlorhampa sp. 2
Cinlorhampa sp. 3
Empididae labra sobrina
Empis copiosa
Empis fulvicollis
Empis (Empis) caelestis
Empis macrorhyncha
Empis nigricolor
Empis (Coptophlebia) albinervis
Empis (Coptophlebia) leptomeron
Empis (Empis) insifer
Empis sp.
Lampremis sp.
Macrostomus sp. 1
Macrostomus sp. 2
Macrostomus sp. 3
Macrostomus sp. 4
Opeatocerata sp.
Porphyrochroa sp. 1
Porphyrochroa sp. 2
Porphyrochroa sp. 3
Porphyrochroa sp. 4
Rhamphomyia (Amyndrona) erythrophthalma
Rhamphomyia (Holoclera) nigripennis
Rhamphomyia (Pararhamphomyia) barbata
Rhamphomyia (Pararhamphomyia) tibellia
Rhamphomyia sp.
Rhamphomyia intersepta
Spichosa sp. 1
Spichosa sp. 2
Aplomera sp. 1
Aplomera sp. 2
Aplomera sp. 3
Aplomera sp. 4
Aplomera sp. 5
Atrichopleura caudata
Atrichopleura sp. 1
Atrichopleura sp. 2
Atrichopleura sp. 3
Atrichopleura sp. 4
Atrichopleura sp. 5
Atrichopleura sp. 6
Atrichopleura sp. 7
Atrichopleura sp. 8
Atrichopleura sp. 9
Atrichopleura sp. 10
Atrichopleura sp. 11
Atrichopleura sp. 12
Atrichopleura sp. 13
Atrichopleura sp. 14
Atrichopleura sp. 15
Atrichopleura sp. 16
Atrichopleura sp. 17
Atrichopleura sp. 18
Atrichopleura sp. 19
Atrichopleura sp. 20
Atrichopleura sp. 21
Atrichopleura sp. 22
Atrichopleura sp. 23
Atrichopleura sp. 24
Atrichopleura sp. 25
Atrichopleura sp. 26
Atrichopleura sp. 27
Atrichopleura sp. 28
Atrichopleura sp. 29
Atrichopleura sp. 30
Atrichopleura sp. 31
Atrichopleura sp. 32
Atrichopleura sp. 33
Atrichopleura sp. 34
Atrichopleura sp. 35
Atrichopleura sp. 36
Atrichopleura sp. 37
Atrichopleura sp. 38
Atrichopleura sp. 39
Atrichopleura sp. 40
Atrichopleura sp. 41
Atrichopleura sp. 42
Atrichopleura sp. 43
Atrichopleura sp. 44
Atrichopleura sp. 45
Atrichopleura sp. 46
Atrichopleura sp. 47
Atrichopleura sp. 48
Atrichopleura sp. 49
Atrichopleura sp. 50
Atrichopleura sp. 51
Atrichopleura sp. 52
Atrichopleura sp. 53
Atrichopleura sp. 54
Atrichopleura sp. 55
Atrichopleura sp. 56
Atrichopleura sp. 57
Atrichopleura sp. 58
Atrichopleura sp. 59
Atrichopleura sp. 60
Atrichopleura sp. 61
Atrichopleura sp. 62
Atrichopleura sp. 63
Atrichopleura sp. 64
Atrichopleura sp. 65
Atrichopleura sp. 66
Atrichopleura sp. 67
Atrichopleura sp. 68
Atrichopleura sp. 69
Atrichopleura sp. 70
Atrichopleura sp. 71
Atrichopleura sp. 72
Atrichopleura sp. 73
Atrichopleura sp. 74
Atrichopleura sp. 75
Atrichopleura sp. 76
Atrichopleura sp. 77
Atrichopleura sp. 78
Atrichopleura sp. 79
Atrichopleura sp. 80
Atrichopleura sp. 81
Atrichopleura sp. 82
Atrichopleura sp. 83
Atrichopleura sp. 84
Atrichopleura sp. 85
Atrichopleura sp. 86
Atrichopleura sp. 87
Atrichopleura sp. 88
Atrichopleura sp. 89
Atrichopleura sp. 90
Atrichopleura sp. 91
Atrichopleura sp. 92
Atrichopleura sp. 93
Atrichopleura sp. 94
Atrichopleura sp. 95
Atrichopleura sp. 96
Atrichopleura sp. 97
Atrichopleura sp. 98
Atrichopleura sp. 99
Atrichopleura sp. 100
Atrichopleura sp. 101
Atrichopleura sp. 102
Atrichopleura sp. 103
Atrichopleura sp. 104
Atrichopleura sp. 105
Atrichopleura sp. 106
Atrichopleura sp. 107
Atrichopleura sp. 108
Atrichopleura sp. 109
Atrichopleura sp. 110
Atrichopleura sp. 111
Atrichopleura sp. 112
Atrichopleura sp. 113
Atrichopleura sp. 114
Atrichopleura sp. 115
Atrichopleura sp. 116
Atrichopleura sp. 117
Atrichopleura sp. 118
Atrichopleura sp. 119
Atrichopleura sp. 120
Atrichopleura sp. 121
Atrichopleura sp. 122
Atrichopleura sp. 123
Atrichopleura sp. 124
Atrichopleura sp. 125
Atrichopleura sp. 126
Atrichopleura sp. 127
Atrichopleura sp. 128
Atrichopleura sp. 129
Atrichopleura sp. 130
Atrichopleura sp. 131
Atrichopleura sp. 132
Atrichopleura sp. 133
Atrichopleura sp. 134
Atrichopleura sp. 135
Atrichopleura sp. 136
Atrichopleura sp. 137
Atrichopleura sp. 138
Atrichopleura sp. 139
Atrichopleura sp. 140
Atrichopleura sp. 141
Atrichopleura sp. 142
Atrichopleura sp. 143
Atrichopleura sp. 144
Atrichopleura sp. 145
Atrichopleura sp. 146
Atrichopleura sp. 147
Atrichopleura sp. 148
Atrichopleura sp. 149
Atrichopleura sp. 150
Atrichopleura sp. 151
Atrichopleura sp. 152
Atrichopleura sp. 153
Atrichopleura sp. 154
Atrichopleura sp. 155
Atrichopleura sp. 156
Atrichopleura sp. 157
Atrichopleura sp. 158
Atrichopleura sp. 159
Atrichopleura sp. 160
Atrichopleura sp. 161
Atrichopleura sp. 162
Atrichopleura sp. 163
Atrichopleura sp. 164
Atrichopleura sp. 165
Atrichopleura sp. 166
Atrichopleura sp. 167
Atrichopleura sp. 168
Atrichopleura sp. 169
Atrichopleura sp. 170
Atrichopleura sp. 171
Atrichopleura sp. 172
Atrichopleura sp. 173
Atrichopleura sp. 174
Atrichopleura sp. 175
Atrichopleura sp. 176
Atrichopleura sp. 177
Atrichopleura sp. 178
Atrichopleura sp. 179
Atrichopleura sp. 180
Atrichopleura sp. 181
Atrichopleura sp. 182
Atrichopleura sp. 183
Atrichopleura sp. 184
Atrichopleura sp. 185
Atrichopleura sp. 186
Atrichopleura sp. 187
Atrichopleura sp. 188
Atrichopleura sp. 189
Atrichopleura sp. 190
Atrichopleura sp. 191
Atrichopleura sp. 192
Atrichopleura sp. 193
Atrichopleura sp. 194
Atrichopleura sp. 195
Atrichopleura sp. 196
Atrichopleura sp. 197
Atrichopleura sp. 198
Atrichopleura sp. 199
Atrichopleura sp. 200
Atrichopleura sp. 201
Atrichopleura sp. 202
Atrichopleura sp. 203
Atrichopleura sp. 204
Atrichopleura sp. 205
Atrichopleura sp. 206
Atrichopleura sp. 207
Atrichopleura sp. 208
Atrichopleura sp. 209
Atrichopleura sp. 210
Atrichopleura sp. 211
Atrichopleura sp. 212
Atrichopleura sp. 213
Atrichopleura sp. 214
Atrichopleura sp. 215
Atrichopleura sp. 216
Atrichopleura sp. 217
Atrichopleura sp. 218
Atrichopleura sp. 219
Atrichopleura sp. 220
Atrichopleura sp. 221
Atrichopleura sp. 222
Atrichopleura sp. 223
Atrichopleura sp. 224
Atrichopleura sp. 225
Atrichopleura sp. 226
Atrichopleura sp. 227
Atrichopleura sp. 228
Atrichopleura sp. 229
Atrichopleura sp. 230
Atrichopleura sp. 231
Atrichopleura sp. 232
Atrichopleura sp. 233
Atrichopleura sp. 234
Atrichopleura sp. 235
Atrichopleura sp. 236
Atrichopleura sp. 237
Atrichopleura sp. 238
Atrichopleura sp. 239
Atrichopleura sp. 240
Atrichopleura sp. 241
Atrichopleura sp. 242
Atrichopleura sp. 243
Atrichopleura sp. 244
Atrichopleura sp. 245
Atrichopleura sp. 246
Atrichopleura sp. 247
Atrichopleura sp. 248
Atrichopleura sp. 249
Atrichopleura sp. 250
Atrichopleura sp. 251
Atrichopleura sp. 252
Atrichopleura sp. 253
Atrichopleura sp. 254
Atrichopleura sp. 255
Atrichopleura sp. 256
Atrichopleura sp. 257
Atrichopleura sp. 258
Atrichopleura sp. 259
Atrichopleura sp. 260
Atrichopleura sp. 261
Atrichopleura sp. 262
Atrichopleura sp. 263
Atrichopleura sp. 264
Atrichopleura sp. 265
Atrichopleura sp. 266
Atrichopleura sp. 267
Atrichopleura sp. 268
Atrichopleura sp. 269
Atrichopleura sp. 270
Atrichopleura sp. 271
Atrichopleura sp. 272
Atrichopleura sp. 273
Atrichopleura sp. 274
Atrichopleura sp. 275
Atrichopleura sp. 276
Atrichopleura sp. 277
Atrichopleura sp. 278
Atrichopleura sp. 279
Atrichopleura sp. 280
Atrichopleura sp. 281
Atrichopleura sp. 282
Atrichopleura sp. 283
Atrichopleura sp. 284
Atrichopleura sp. 285
Atrichopleura sp. 286
Atrichopleura sp. 287
Atrichopleura sp. 2

[illegible]**Posições 3601 - 3750**[illegible]

Posições 3751 - 3889

Hyperperacera nemoralis

Oropezella sp. 1
Oropezella sp. 2
Hesperemys sp. 2
Homoptera sp.
Iteaphila sp.
Oreogeton scopifer
Philetus sp.
Clinorhampha sp. 1
Clinorhampha sp. 2
Clinorhampha sp. 3
Empidadelphica sobrina
Empis copiosa
Empis fulvicollis
Empis lateralis
Empis macrorrhyncha
Empis nigricolor
Empis (Coptophlebia) albinervis
Empis (Coptophlebia) leptomorion
Empis vaginifer
Empis sp.
Lampremys sp.
Macroctonus sp. 1
Macroctonus sp. 2
Macroctonus sp. 3
Opeotocerata sp.
Porphyrochroa sp. 1
Porphyrochroa sp. 2
Porphyrochroa sp. 3
Porphyrochroa sp. 4
Rhamphomyia (Amydreona) erythrophthalma
Rhamphomyia (Moloclera) nigripennis
Rhamphomyia (Parachramphomyia) barbata
Rhamphomyia (Parachramphomyia) tibiella
Rhamphomyia Rhamphomyia sp.
Rhamphomyia intersteta
Spilicosa sp. 1
Spilicosa sp. 2
Aplomera sp. 1
Aplomera sp. 2
Aplomera sp. 3
Aplomera sp. 4
Aplomera sp. 5
Atrichopleura caudata
Atrichopleura spinipes
Atrichopleura sp. 1
Atrichopleura sp. 2
Atrichopleura sp. 3
Deuteragonista sp. 1
Deuteragonista sp. 2
Deuteragonista sp. 3
Hilara armata
Hilara obscura
Hilara seriata
Hilara tristis
Hilara sp. 1
Hilara sp. 2
Hilara sp. 3
Hilara sp. 4
Hilara sp. 5
Hilara sp. 6
Hilara sp. 7
Hilara sp. 8
Hilara sp. 9
Hilara sp. 10
Hilara sp. 11
Hilara sp. 12
Hilara sp. 13
Hilara sp. 14
Hilara sp. 15
Hilara sp. 16
Hilara sp. 17
Hilara sp. 18
Hilara sp. 19
Hilarempis inops
Hilarempis facilius
Hilarempis notabilis
Hilarempis sp. 1
Hilarempis sp. 2
Hilarempis sp. 3
Hilarempis sp. 4
Hilarempis sp. 5
Hilarempis sp. 6
Hilarempis sp. 7
Hilarigona brachygastra
Hilarigona obscuripennis
Hilarigona pudica
Hilarigona sp. 1
Hilarigona sp. 2
Hilarigona sp. 3
Psitrichotus sp.
Thinemys sp.

[illegible]

TTTAAATTTTACCAGGATTGGGAATAATTTCTCATATTATTAGTCAAGAATGTGGAAAAAAGAAACATTGGGCATCATTAGGATAAATTTATGCTATATTAGCAATTGGATTATTAGGATTATTGTTTGAGCTCATC-----

TTTAAATTTTACCAGGATTGGGAATAATTTCTCACATTATTAGTCAAGAATGTGGAAAAAAGAAACATTGGGCTCTTAGGAATAAATTTATGCTATATTAGCTAT-----

TTTAAATTTTACCAGGATTGGGAATAATTTCTCATATTATTAGTCAAGAATCGGGAAAAAAGAAACATTGGATCATTAGGATAAATTTATGCTATATTAGCAATTGGATTATTAGGATTATTG-----

TTTAAATTTTACCAGG-----

TTTT-----

TTTT-----

TTTAAATTTTACCAGGATTGGGAATAATTTCTCATATTATTAGTCAAGAATGTGGAAAAAAGAAACATTGGATCATTAGGATAAATTTATGCTATATTAGCAATTGGCTATTAGGATTATT-----

TTTAAATTTTACCAGGATTGGGAATAATTTCTCATATTATTAGTCAAGAATCGGGAAAAAAGAAACATTGGGTCATTAGGAATAAATTTATGCTATATTAGCTATTGCTATTAGGATTATTGTTTGAGCTCATC-----

TTTAAATTTTACCAGGATTGGGAATAATTTCTCATATTATTAGTCAAGAATGTGGAAAAAAGAAACATTCCGGATCATTAGGATAAATTTATGCTATATTAGCTAT-----

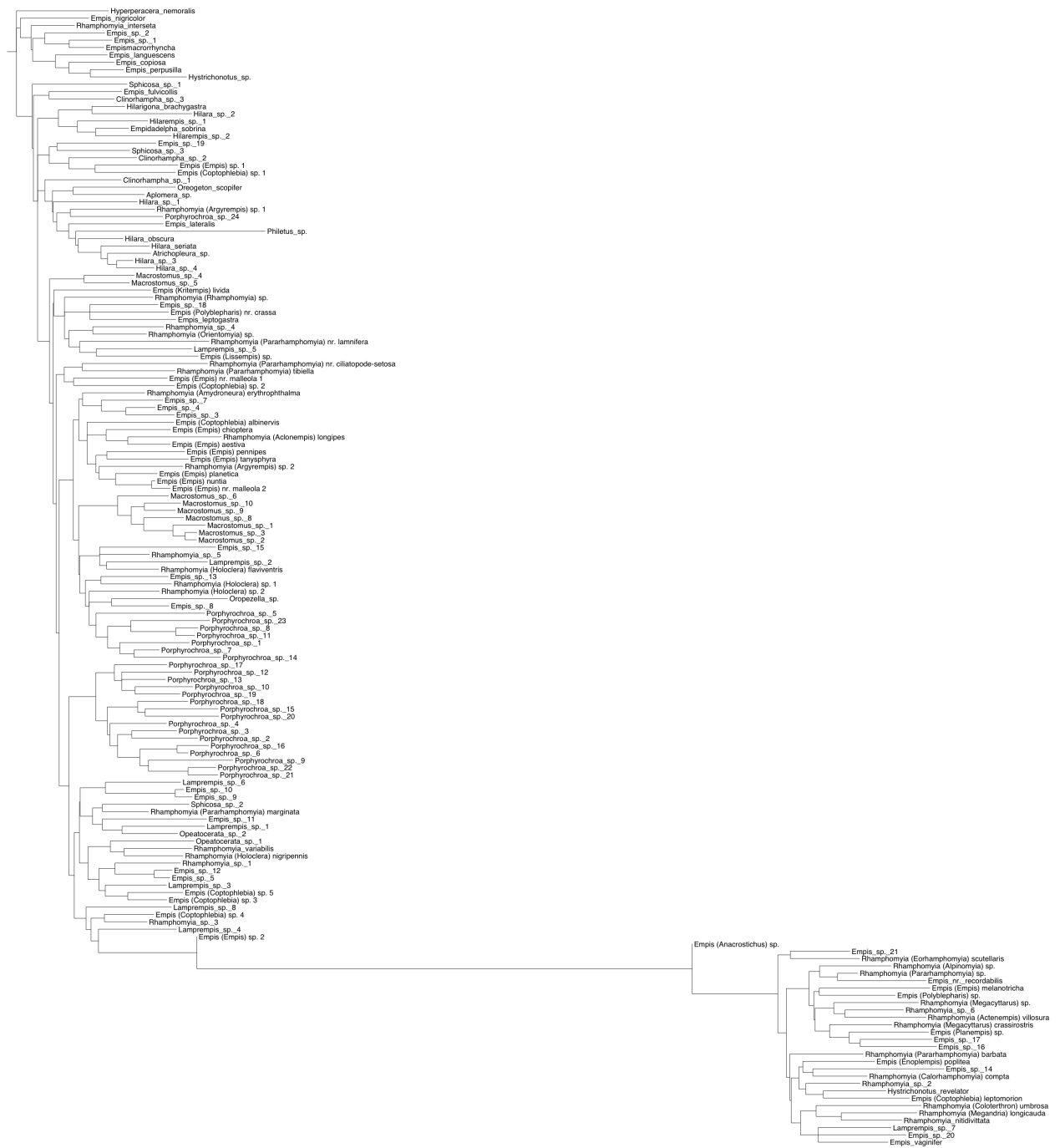
TTTAAATTTTACCAGGATTGGGAATAATTTCTCATATTATTAGTCAAGAATGTGGAAAAAAGAAACATTTCGGTCTTTAGGATAAATTTATGCC-----

TTTAAATTTTACCAGGATTGGGAATAATTTCTCATATTATTAGTCAAGAATGTGGAAAAAAGAAACATTTCGGATCATTAGGAATAAATTTATGCTATATTAGCTATTGCTATTAGGATTATTGTTTGAGCTCATC-----

TTTAAATTTTACCAGGATTGGGAATAATTTCCACATTATTAGTCAAGAATCGGGAAAAAAGAAACATTGGATCATTAGGAATAAATTTATGCTATATTAGCAATTGGATTATTAGGATTATTG-----

TTTAAATTTTACCAGGATTGGGAATAATTTCTCATATTATTAGTCAAGAATGTGGAAAAAAGAAACATTTCGGTCTATTAGGATAAATTTATGCTATATTAGCAAT-----

TTTAAATTTTACCAGGATTGGGAATAATTTCTCATATTATTAGTCAAGAATGTGGAAAAAAGAAACATTTCGGTCTATTGGGATAAATTTATGCTATATTAGC-----



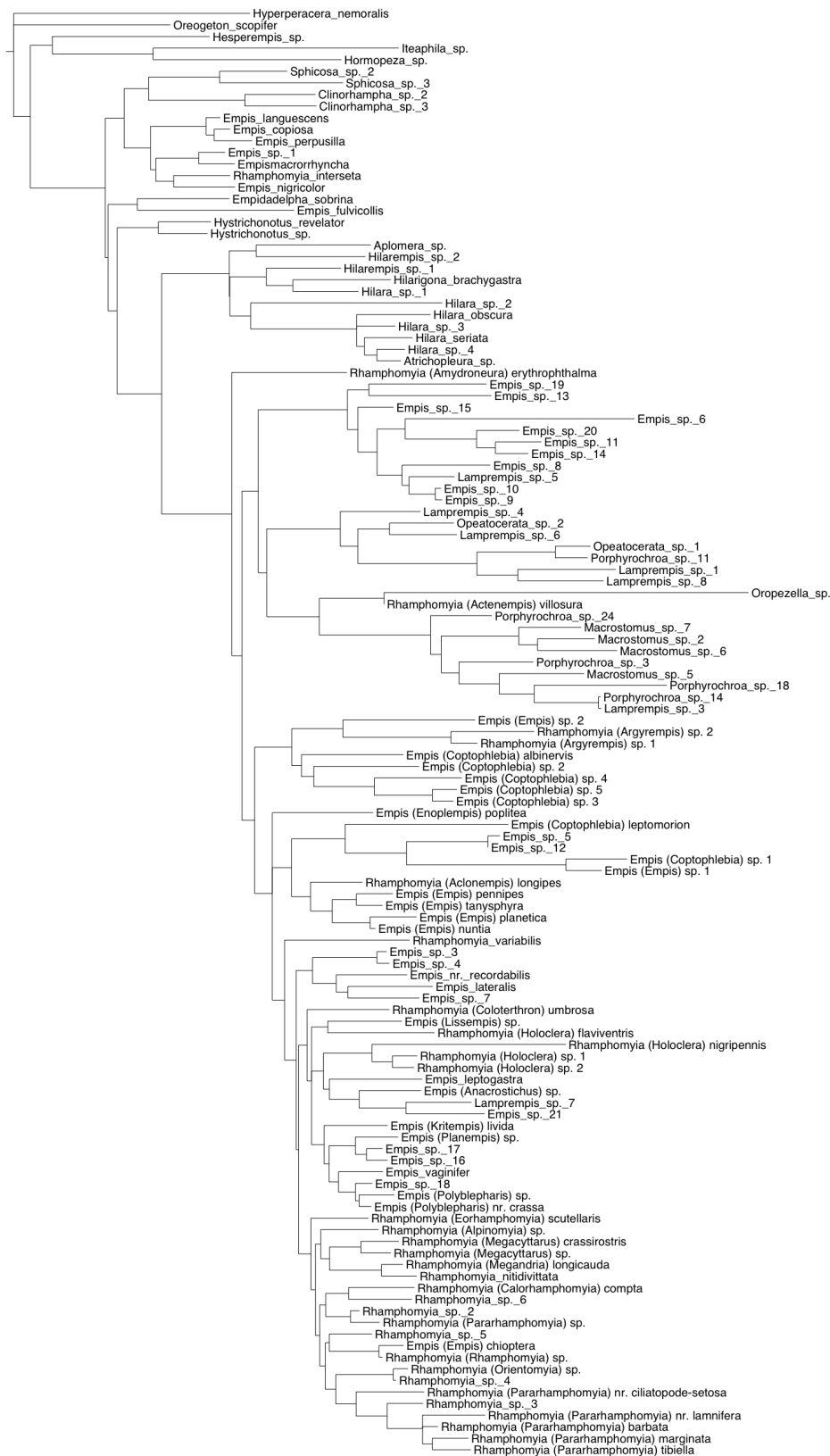
Anexo 4: Filogenia da partição COI construída a partir da análise de máxima verossimilhança mostrando as relações de parentesco entre as espécies da tribo Empidini e os grupos-externos (155 terminais e 905 caracteres; -lnL= 28627.52049).

Anexo 5: Filogenia da partição CAD1 construída a partir da análise de máxima verossimilhança mostrando as relações de parentesco entre as espécies da tribo Empidini e os grupos-externos (156 terminais e 1083 caracteres; -lnL= 41145.48103).

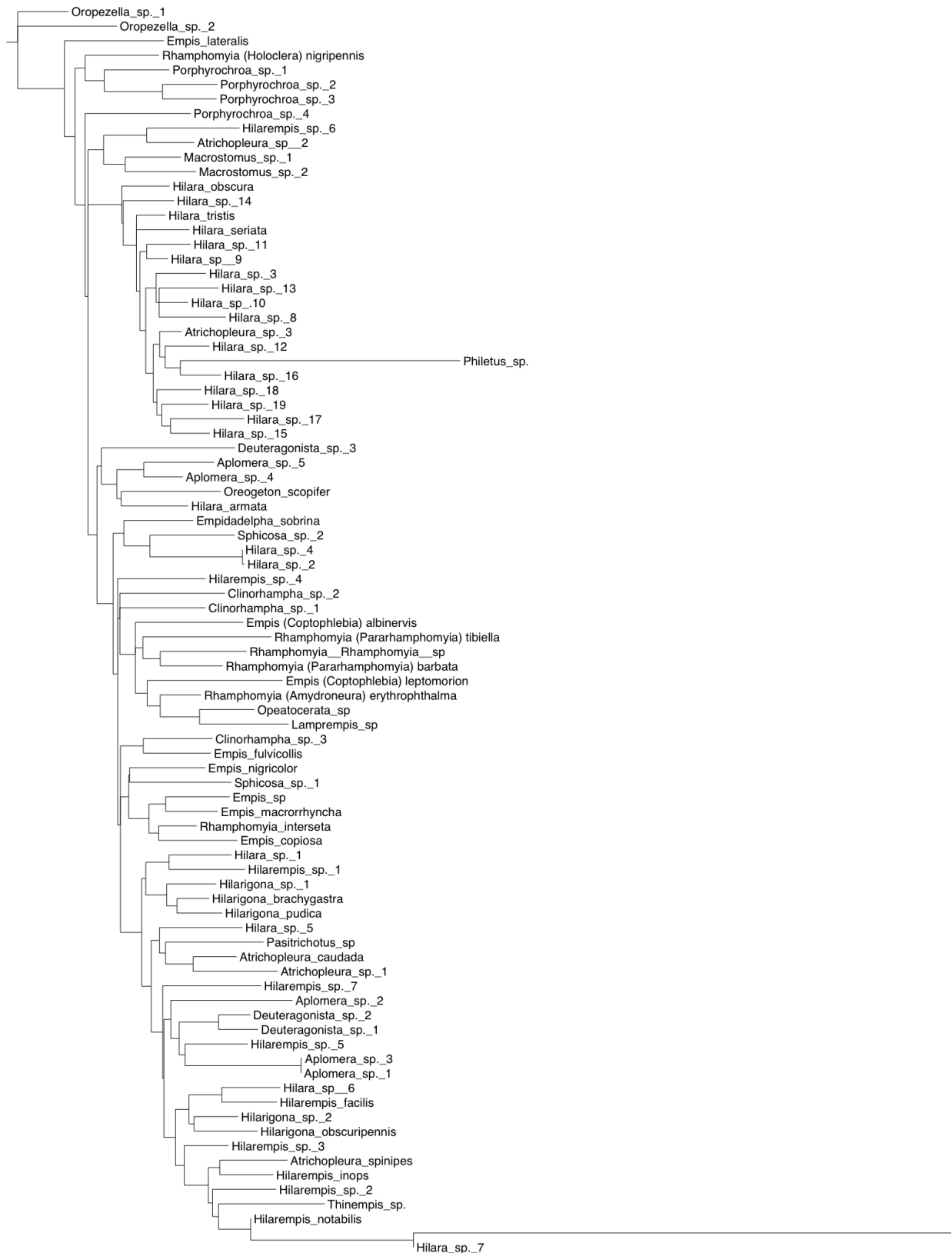
Anexo 6: Filogenia da partição CAD2 construída a partir da análise de máxima verossimilhança mostrando as relações de parentesco entre as espécies da tribo Empidini e os grupos-externos (149 terminais e 785 caracteres; -lnL= 25236.57332).



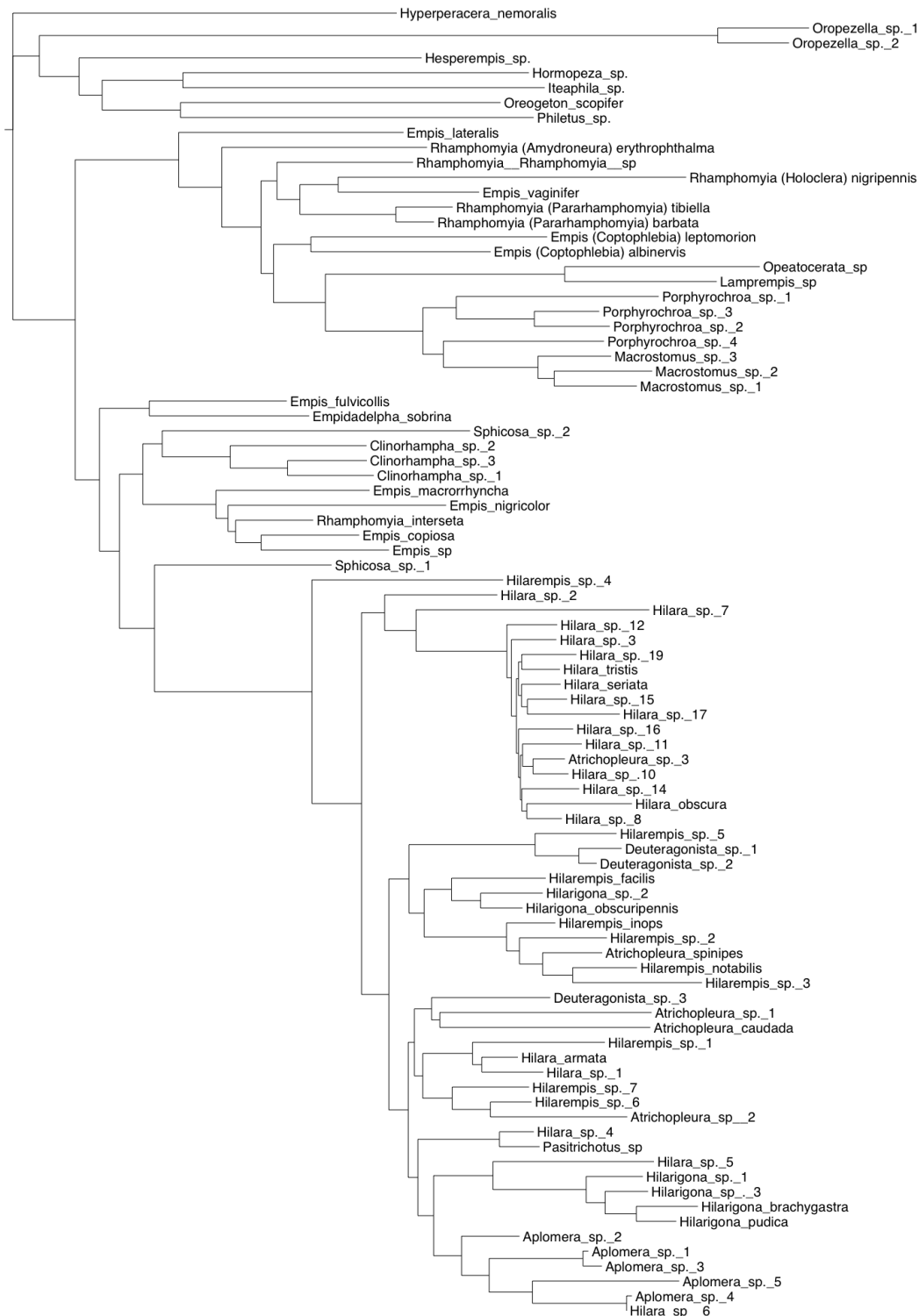
Anexo 7: Filogenia da partição CAD3 construída a partir da análise de máxima verossimilhança mostrando as relações de parentesco entre as espécies da tribo Empidini e os grupos-externos (135 terminais e 533 caracteres; -lnL= 15815.1428).



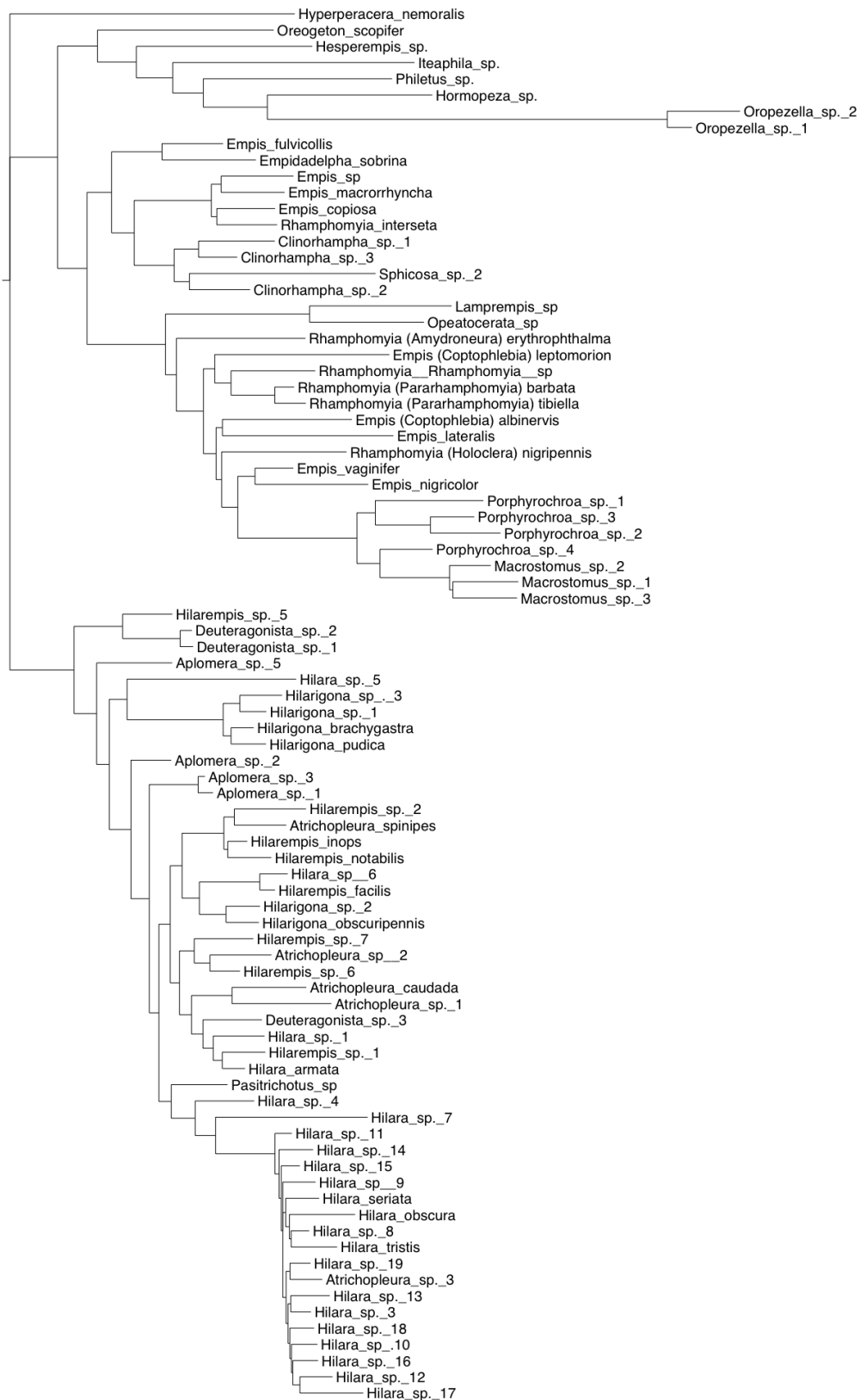
Anexo 8: Filogenia da partição CAD4 construída a partir da análise de máxima verossimilhança mostrando as relações de parentesco entre as espécies da tribo Empidini e os grupos-externos (125 terminais e 802 caracteres; -lnL= 22712.00447).



Anexo 9: Filogenia da partição COI construída a partir da análise de máxima verossimilhança mostrando as relações de parentesco entre as espécies da tribo Hilarini e os grupos-externos (86 terminais e 859 caracteres; -lnL= 15581.69008). O ramo longo corresponde à *Philetus* sp.



Anexo 10: Filogenia da partição CAD1 construída a partir da análise de máxima verossimilhança mostrando as relações de parentesco entre as espécies da tribo Hilarini e os grupos-externos (88 terminais e 1092 caracteres; -lnL= 25285.01461).



Anexo 11: Filogenia da partição CAD2 construída a partir da análise de máxima verossimilhança mostrando as relações de parentesco entre as espécies da tribo Hilarini e os grupos-externos (86 terminais e 789 caracteres; -lnL= 16468.27294).



Anexo 12: Filogenia da partição CAD3 construída a partir da análise de máxima verossimilhança mostrando as relações de parentesco entre as espécies da tribo Hilarini e os grupos-externos (79 terminais e 526 caracteres; -lnL= 10041.24276).



Anexo 13: Filogenia da partição CAD4 construída a partir da análise de máxima verossimilhança mostrando as relações de parentesco entre as espécies da tribo Hilarini e os grupos-externos (75 terminais e 830 caracteres; -lnL= 15036.08277).